

---

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## SUR LA DÉSINFECTION PAR LES VAPEURS DE FORMALDÉHYDE

PAR MM.

L. VAILLARD

ET

G.-H. LEMOINE

Médecin principal de l'armée,  
Professeur au Val-de-Grâce.

Médecin-major de 1<sup>re</sup> classe,  
Professeur agrégé.

---

Les travaux relatifs aux propriétés microbicides du formol ont maintes fois signalé l'opportunité de son application à la purification des locaux contaminés. Cette application a été récemment faite dans des conditions semblables à celles de la pratique, et les mémoires de MM. Gabriel Roux et Trillat, Bosc, ont relaté dans ces *Annales* les résultats obtenus à Lyon et à Montpellier avec les appareils formogènes de M. Trillat. L'intérêt qui s'attache à cette question nous engage à consigner brièvement ici le résumé d'expériences analogues, effectuées par ordre du Ministre de la Guerre sur la sollicitation de M. Trillat. La comparaison des résultats recueillis de part et d'autre contribuera à former l'opinion sur la valeur d'un procédé de désinfection qui n'est pas sans utilité pour l'hygiène publique.

Trois appareils formogènes ont été successivement proposés par M. Trillat et mis en expérience :

Appareil à oxydation d'alcool méthylique;

— à courant de vapeurs humides de formol;

— dégageant des vapeurs sèches de formaldéhyde.

Le premier présentait de si nombreuses défauts qu'il a paru absolument inutilisable en pratique; aussi, sur notre demande, l'inventeur a-t-il dû faire subir à ses appareils des



modifications de principe qui ont abouti à la construction de l'autoclave formogène décrit en détail par MM. Gabriel Roux et Trillat.

Deux locaux ont servi pour les expériences :

a. — Une chambre de 39<sup>m³</sup>.

b. — Une salle d'hôpital cubant 660<sup>m³</sup>.

Les objets à désinfecter y étaient disposés à des hauteurs différentes (sur le plancher, à 1<sup>m</sup>,50 du sol, près du plafond) et en des points plus ou moins éloignés du générateur de formol.

L'épreuve a porté sur des fausses membranes diphtéritiques desséchées, des fragments de toile supportant, à l'état sec, des crachats, des déjections alvines, du sang d'animal mort d'infection par le pneumocoque, ou des cultures des microbes suivants : staphylocoque pyogène; vibrion cholérique; bacille pyocyanique; streptocoque; bacille typhique; bactérie charbonneuse sporulée; vibrion septique; bacille tétanique; *bac. subtilis*.

Presque toutes les matières d'épreuve ont été librement exposées à l'action des vapeurs de formaldéhyde; quelques-unes seulement ont été abritées sous le pli d'une couverture.

Après chaque opération, des poussières du local désinfecté étaient recueillies sur les murs, les meubles et surtout dans les fentes du parquet; parfois aussi on a prélevé du crin contenu dans les matelas exposés aux vapeurs.

La mise en culture des objets ci-dessus désignés a toujours été précédée d'un lavage à l'eau ammoniacale.

#### EXPÉRIENCE I. — Appareil à oxydation d'alcool méthylique.

Dimension du local : 39 mètres cubes; durée de l'action des vapeurs de formaldéhyde : 24 heures.

Les résultats constatés sont résumés dans le tableau suivant :



	3 <sup>e</sup> JOUR de la mise en culture	13 <sup>e</sup> JOUR	17 <sup>e</sup> JOUR
Staphylocoque pyog.....	—	—	—
Vibron cholérique.....	—	—	—
B. pyocyanique.....	—	—	—
Pneumocoque (sang).....	—	—	—
Bac. de la diphtérie (fausse membrane).....	—	—	—
Streptocoque.....	—	—	—
Bac. typhique.....	—	—	—
Charbon sporulé.....	—	—	—
Vibron septique.....	—	—	+
B. tétanique (spores).....	—	—	+
B. subtilis.....	+	+	+
Crachats.....	—	—	—
Crachats tuberculeux.....	—	—	—
Matières fécales.....	—	+	+
Poussières superficielles.....	—	—	—

Les résultats ont été identiques pour les trois séries d'échantillons placées l'une au plafond, l'autre à 1<sup>m</sup>,50 du sol, la troisième au niveau du plancher.

Le tissu imprégné de crachats tuberculeux a été inoculé dans le péritoine d'un cobaye; sacrifié deux mois après, cet animal ne présentait aucune lésion tuberculeuse.

Les vapeurs de formol dégagées en abondance dans un espace restreint ont donc désinfecté les objets soumis à leur action, à l'exception de ceux qui étaient souillés de spores résistantes (tétanos, vibron septique, *b. subtilis*).

EXPÉRIENCE II. — *Emploi simultané de deux lampes à oxydation fonctionnant dans une salle de 660 mètres cubes.*

13 litres d'alcool méthylique ont été consommés; durée de l'action des vapeurs de formaldéhyde : 24 heures.

Résultats :



	OBJETS SITUÉS PRÈS DE L'APPAREIL		OBJETS SITUÉS AU FOND DE LA SALLE		
	3 <sup>e</sup> jour.	13 <sup>e</sup> jour.			
Staphylocoque pyog.....	—	—	+	+	+
Vibron cholérique.....	—	—	+	+	+
B. pyocyanique.....	—	—	+	+	+
Pneumocoque (sang).....	—	—	+	+	+
Diphtérie (fausse membrane)....	+	+	+	+	+
Streptocoque.....	+	—	—	—	+
Bac. typhique.....	+	+	+	+	+
Charbon (spores).....	+	+	+	+	+
Vibron septique (spores).....	+	+	+	+	+
B. tétanique (spores).....	+	+	+	+	+
B. subtilis (spores).....	+	+	+	+	+
Crachats.....	+	+	+	+	+
Crachats tuberculeux.....	+	+	+	+	+
Matières fécales.....	+	+	+	+	+

En présence de résultats aussi défavorables, il n'a pas été jugé utile d'inoculer à l'animal des tissus imprégnés de crachat tuberculeux.

L'insuccès de cette opération ayant paru imputable à l'insuffisance des appareils employés, M. Trillat proposa un nouvel instrument destiné, non plus à produire le formol par oxydation, mais à le dégager d'une solution à 35 0/0 au moyen d'un courant de vapeur d'eau.

EXPÉRIENCE III. — *Appareil à courant de vapeurs humides de formol.*

Salle de 660<sup>m³</sup>. — Des objets soumis à la désinfection, les uns sont retirés 6 heures après le début de l'opération, les autres après 24 heures. Un lot est placé dans un pli de couverture.

Résultats :



	ÉCHANTILLONS LIBREMENT EXPOSÉS AUX VAPEURS						ÉCHANTILLONS placés sous le pli d'une couverture.	
	Exposés pendant 6 heures aux vapeurs de formol.		Exposés pendant 24 heures aux vapeurs de formol.				Exposés pendant 24 h. aux vapeurs de formol.	
	2 <sup>e</sup> jour	10 <sup>e</sup> jour	2 <sup>e</sup> jour	4 <sup>e</sup> jour	12 <sup>e</sup> jour	19 <sup>e</sup> jour	2 <sup>e</sup> jour	
Staphylocoque pyog....	+	+	—	—	—	—	+	+
Vibrien cholérique.....	—	—	—	—	—	—	+	+
B. pyocyanique.....	—	—	—	—	—	—	+	+
Pneumocoque (sang)....	+	+	—	—	—	—	+	+
B. de la diphtérie.....	+	+	—	—	—	—	+	+
Streptocoque .....	+	+	—	—	—	—	+	+
Bac. typhique.....	+	+	—	—	—	—	+	+
Charbon (spores).....	+	+	—	—	—	—	+	+
Vibrien septique (spores)	+	+	—	+	+	+	+	+
B. tétanique (spores)....	+	+	—	+	+	+	+	+
B. subtilis (spores).....	+	+	+	+	+	+	+	+
Crachats.....	+	+	—	—	—	—	+	+
Crachats tuberculeux ...	+	+	—	—	—	—	+	+
Matières fécales.....	+	+	—	—	—	—	+	+
Poussières superficielles.	»	»	—	—	—	—	»	»
Poussières voisines de la surface.....	»	»	+	+	+	+	»	»

Après 6 heures, l'action du désinfectant a donc été très peu marquée. Après 24 heures elle s'est traduite par la destruction des microbes mis en expérience, à l'exception de ceux qui forment des spores. Un échantillon de crachat tuberculeux exposé pendant ce temps aux vapeurs de formaldéhyde a été inoculé dans le péritoine d'un cobaye; sacrifié deux mois après, cet animal était indemne de tuberculose.

Les vapeurs de formol ne semblent pas pénétrer à travers les tissus; elles n'ont pas stérilisé les produits infectieux abrités dans le pli d'une couverture. Les poussières disposées en couche d'épaisseur appréciable paraissent échapper partiellement à leur action.



EXPÉRIENCE IV. — Autoclave formogène fonctionnant en dehors du local à désinfecter.

Salle de 660<sup>m</sup><sup>3</sup>. — Evaporation de 15 litres de solution de formol à 35 0/0. — Des objets soumis à la désinfection, les uns ont été retirés du local après 6 heures, les autres après 24 heures. Voici les résultats :

	ÉCHANTILLONS exposés pendant 6 heures aux vapeurs de formol.			ÉCHANTILLONS exposés pendant 24 heures.		
	4 <sup>e</sup> jour.	17 <sup>e</sup> jour.	24 <sup>e</sup> jour.	4 <sup>e</sup> jour.	17 <sup>e</sup> jour.	24 <sup>e</sup> jour.
Staphylocoque pyog...	—	—	—	—	—	—
Vibron cholérique....	—	—	—	—	—	—
B. pyocyannique.....	—	—	—	—	—	—
Pneumocoque (sang)...	—	—	—	—	—	—
B. de la diphtérie.....	—	—	—	—	—	—
Streptocoque.....	—	—	—	—	—	—
B. typhique.....	—	—	—	—	—	—
Charbon (spores).....	—	—	+	—	—	—
Vibron septique (spor.)	—	—	+	—	—	+
B. tétanique (spores)...	—	+	+	—	+	+
B. subtilis (spores)....	+	+	+	—	+	+
Crachats.....	—	—	—	—	—	—
Crachats tuberculeux..	—	—	—	—	—	—
Matières fécales.....	—	—	—	—	—	—
Poussières superficielles	»	»	»	+	+	+
Poussières voisines de la surface.....	»	»	»	+	+	+
Crin d'un matelas.....	»	»	»	+	+	+

L'autoclave formogène donne des résultats meilleurs que l'appareil précédent. Le maximum des effets désinfectants est déjà obtenu après 6 heures d'action, mais, comme toujours, ces effets se limitent aux bactéries dépourvues de spores. Si la végétation des spores est ralentie, elle n'aboutit pas moins à des cul-



tures douées de propriétés pathogènes; les cultures obtenues avec les spores tétaniques exposées pendant 24 heures aux vapeurs de formol se sont montrées très toxiques.

En résumé, l'aldéhyde formique est un désinfectant dont les effets paraissent incomparablement supérieurs à ceux du sublimé employé en pulvérisation. Son action se manifeste non seulement sur les bactéries dénuées de protection, mais aussi sur les bactéries incluses dans une mince couche de matière albumineuse; très efficace lorsqu'elle s'exerce sur la forme mycélienne des microbes, elle est, par contre, inconstante ou le plus souvent nulle à l'égard des spores.

Pour être sûrement actives, les vapeurs de formol doivent être dégagées rapidement et en grande quantité.

Désinfectant gazeux, le formol présente par cela même de grands avantages au point de vue de la purification des locaux. Mais il se polymérise rapidement et se transforme alors en un corps inerte. Aussi doit-il être considéré *comme un désinfectant de surfaces, n'agissant que sur les souillures superficielles, librement exposées au contact des vapeurs.*

Les résultats négatifs obtenus avec les poussières, non pas profondes mais voisines de la surface, avec le contenu des matelas et les objets imprégnés de matières fécales démontrent qu'il peut suffire d'une faible couche isolatrice pour annihiler les effets de l'antiseptique. *Des souillures abritées dans un pli d'étoffe ne sont pas stérilisées.* Ce serait donc une erreur de croire que l'emploi des vapeurs de formol est destiné à remplacer l'étuvage pour la purification des linges, effets et literies contaminés; accepter cette opinion exposerait à des mécomptes dangereux. On ne doit pas demander au formol plus qu'il ne peut donner; désinfectant de surfaces (avec les restrictions indiquées) il n'actionnera guère les souillures tant soit peu profondes ou cachées, les poussières disposées en couche appréciable dans les fentes des parquets ou les fissures des parois.

Réduite à ces proportions, l'action de cet antiseptique n'en reste pas moins d'une incontestable utilité pour la désinfection des locaux, et son emploi paraît devoir être avantageusement substitué à celui des pulvérisations de sublimé, dont l'efficacité est plus que douteuse.



# SUR L'ÉTIOLOGIE ET SUR LES LÉSIONS ANATOMO-PATHOLOGIQUES DE LA POURRITURE D'HOPITAL

PAR LE D<sup>r</sup> H. VINCENT

Médecin major de deuxième classe, attaché au Laboratoire de Bactériologie  
de l'Hôpital militaire de Marseille.

(AVEC LA PLANCHE VI)

---

## I

### HISTORIQUE

Caractérisée par le ramollissement putride et envahissant des plaies et la formation, à leur surface, d'un exsudat pulpeux, fétide, épais, de couleur grisâtre, d'apparence pseudo-membraneuse, la pourriture d'hôpital est devenue, grâce à la vulgarisation de l'antisepsie, une complication chirurgicale tellement rare qu'on n'a guère, actuellement, l'occasion de l'étudier. Elle a provoqué jadis, au contraire, dans les hôpitaux, des ravages épouvantables. A l'Hôtel-Dieu de Paris, Percy rapporte que 98 blessés sur 100 en étaient atteints <sup>1</sup>. La mortalité était considérable, principalement pendant les guerres sanglantes de la Révolution et du premier Empire. Guthrie relevait, en 1813, 512 morts sur 1,614 cas de gangrène nosocomiale, dans les lazarets de l'armée anglaise <sup>2</sup>. Les mêmes résultats désastreux furent observés parmi les blessés de la guerre d'Espagne et après la retraite qui suivit la bataille de Leipzig : le tiers ou même la moitié des blessés atteints de pourriture d'hôpital succombaient à la suite de cette terrible complication. Bien qu'observée pendant la guerre de 1870 chez les blessés allemands (Richter) et chez ceux de l'armée française (Delorme), elle fut cependant moins grave.

Les progrès de la chirurgie l'ont fait aujourd'hui disparaître :

1. *Dict. en 60 vol. Art. Pourriture d'hôpital*, XLV, p. 2.

2. ROCHARD, *Dict. de Médec. et de Chir. prat.*, art. *Pourrit. d'hôpital*.



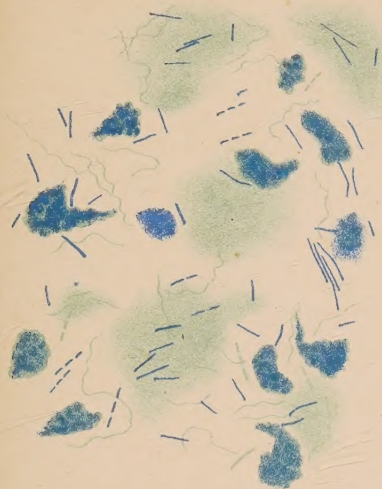


Fig 1

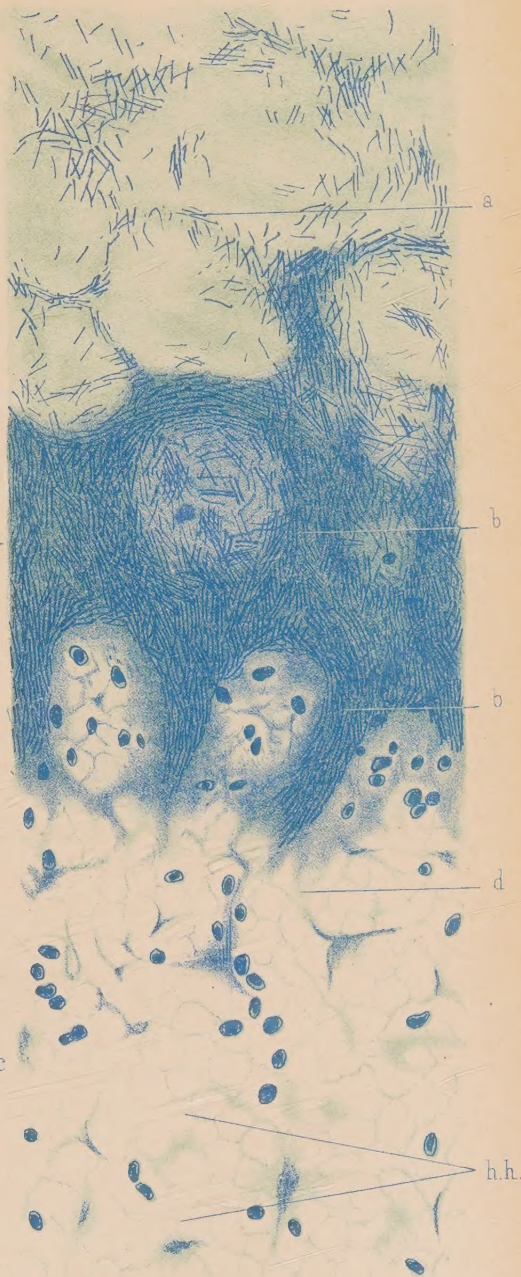


Fig.3-

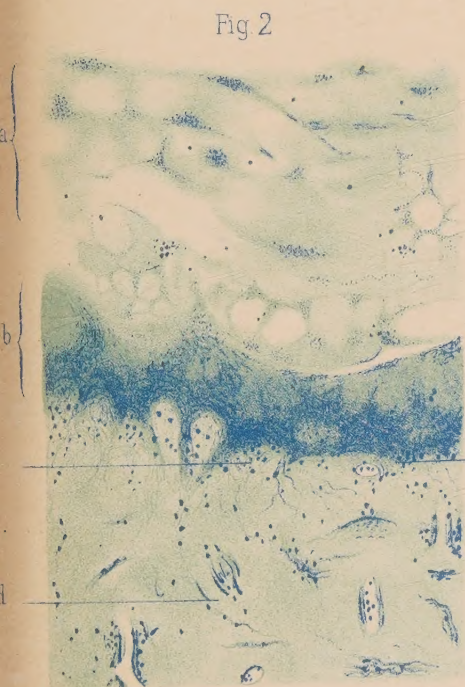


Fig 2

H Vincent del.

V.Roussel lith.







on n'observe plus que quelques cas isolés et, en général, bénins. J. Hutchinson la signale en 1886<sup>1</sup>; Sockeel en a décrit une petite épidémie à Oran<sup>2</sup>; Herff en a, de même, étudié un cas en 1890<sup>3</sup>. Plus récemment, enfin, Rappin<sup>4</sup> a publié les résultats que lui a donnés l'étude de quatre cas de pourriture d'hôpital. Les traités modernes de chirurgie font ressortir la rareté actuelle de cette complication. Reclus mentionne que les plaies se recouvrent quelquefois d'un mince enduit grisâtre qui disparaît par l'eau à 50°-55°; mais il fait remarquer que l'ulcère putride s'attaque surtout aux blessés atteints de misère physiologique, et il ajoute que cette affection « pourrait disparaître avec la guerre; aussi faudra-t-il avoir à la combattre<sup>5</sup>. » Lister professe la même opinion. La récente expédition de Madagascar est venue montrer que ce ne sont pas là de vaines présomptions.

A la fin de l'année 1895 et au commencement de 1896, j'ai eu à traiter, à l'hôpital du Dey, d'Alger, un assez grand nombre de convoyeurs kabyles ou arabes rapatriés de Madagascar et atteints de pourriture d'hôpital à forme parfois très grave. Cette complication a atteint exclusivement les convoyeurs. Elle s'était développée à l'occasion des excoriations et des plaies même légères des pieds, des jambes ou des mains. Avec le fatalisme insouciant qui caractérise leur race, ces hommes, dont la plupart présentaient une malpropreté indescrivable, enlevaient leurs pansements et laissaient leurs plaies en contact avec la terre ou avec leurs vêtements. Il en résulta le développement rapide d'ulcères sordides et envahissants, à odeur infecte, recouverts d'un exsudat grisâtre, pulpeux ou pseudo-membraneux caractéristique<sup>6</sup>. Le nombre des cas de pourriture d'hôpital dont j'ai fait l'étude bactériologique s'est élevé à 47; 9 de ces malades étaient atteints de formes particulièrement sérieuses de cette affection.

1. J. HUTCHINSON, *The Lancet*, 9 janv. 1886.

2. *Arch. de Méd. milit.*, VIII, p. 121.

3. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1890, n° 43, p. 949.

4. *Gaz. médic. de Nantes*, 12 août 1895.

5. *Traité de Chir.*, Paris, 1890, chap. *Pourr. d'hôpital*.

6. Un certain nombre de ces malades, isolés au lazaret de Matifou, ont offert les formes les plus redoutables de la pourriture d'hôpital (ramollissement gangréneux et destruction totale des parties molles des membres, avec mise à nu du squelette osseux, ouverture des articulations, etc...) Mes collègues, MM. ACHINTRE et BRAULT, chargés de soigner ces malades, ont bien voulu m'envoyer quelques fragments de tissus pathologiques. Je leur en exprime ici mes remerciements.



\*  
\* \*

Les notions que l'on possède sur l'étiologie de la pourriture d'hôpital sont fort restreintes. L'agent infectieux qui la tient sous sa dépendance est encore inconnu. Frappés de la fréquence de cette complication et de la transmission épidémique qui paraissait la déterminer, les anciens chirurgiens la rattachaient, cependant, déjà à la contagion. Les éponges, les instruments avaient été maintes fois accusés de servir d'intermédiaire à son transport (Danillo, A. Larrey, Delpech, Ollivier, etc.), et si un certain nombre de chirurgiens éminents tels que Percy, Dupuytren, n'admettaient pas la nature contagieuse de cette affection, sa spécificité n'était pas cependant douteuse pour beaucoup de ceux qui nous ont précédés. Beau, Billroth, Burggraeve pensaient même qu'elle était due à un microphyte. Demme, Hueter, examinant au microscope les produits sécrétés à la surface des plaies, y constatèrent des spores ou des corpuscules arrondis et mobiles<sup>1</sup>. Heine, qui a fait en vain des essais de culture, a vu, dans l'exsudation, des corpuscules arrondis ou ovales analogues à des monades, en même temps que des bactéries de la putréfaction vulgaire<sup>2</sup>. Lebert a signalé des infusoires. Mais, ainsi qu'on l'a fait remarquer, « il est difficile de savoir si ces bactéries sont la cause, les agents essentiels de l'affection... Il est rationnel de penser que cette affection toute locale, si éminemment contagieuse, est d'origine microbienne, mais le microbe, si microbe spécial il y a, reste encore à trouver<sup>3</sup>. »

Dans un travail récent, Rappin<sup>4</sup> rapporte qu'ayant eu l'occasion d'observer quatre cas de pourriture d'hôpital, il a trouvé, dans chaque cas, le bacille pyocyanique. L'inoculation de ce bacille au lapin, sur une plaie déterminée par l'acide sulfurique, provoqua un enduit grisâtre analogue à celui qu'il avait constaté chez un de ses malades ; le bacille du pus bleu y fut retrouvé. Rappin conclut que ce microbe est capable, à lui seul, de déterminer la pourriture d'hôpital.

Tels sont les travaux qui ont été publiés sur l'étiologie de

1. Ref. CHAUVEL, *Dict. encyclop. des Sc. méd.*, t. XXVII, p. 350, art. *Pourrit. d'hôp.*

2. *Handb. d. allgem. u. speciell. Chir. v. Pita u. Billroth*, 1874, Bd X.

3. DELORME, *Tr. de Chir. de guerre*, t. I, Paris, 1888.

4. Sur l'étiol. de la Pourr. d'hôp. *Loc. cit. Anal. in Presse Médic.*, 24 sept. 1895.



cette affection. Avant d'exposer le résultat des recherches que nous avons faites sur le même sujet, il paraît utile de dire qu'elles ne semblent pas confirmer celles de M. Rappin. Le bacille pyocyanique n'a été retrouvé, en effet, par nous qu'exceptionnellement (2 fois sur 47 cas) dans la diphtérie des plaies, et il est permis de croire que ce microbe n'y existait qu'à titre d'agent d'infection surajoutée.

## II

### EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE DE L'EXSUDAT ET DES TISSUS DANS LA POURRITURE D'HOPITAL

L'examen microscopique a été pratiqué, chez tous nos malades, sur la pulpe pseudo-membraneuse existant à la surface des ulcères. Les frottis ont été colorés soit à l'aide du liquide de Ziehl, soit par le bleu phéniqué ou la thionine. Bien que les malades fussent arrivés de Madagascar à des époques différentes (le premier d'entre eux fut observé par nous le 19 septembre 1895; les derniers le furent pendant le courant du mois de février 1896) et qu'ils se fussent infectés dans des localités distinctes, cet examen a donné des résultats constants et uniformes.

Les préparations montrent, au microscope, en quantité ordinairement très grande, parfois extraordinaire, un *bacille* particulier mesurant de  $4\ \mu$  à  $8\ \mu$  en moyenne, en longueur, et une épaisseur de près d' $1\ \mu$  environ. Ce bacille est tantôt et le plus souvent rectiligne, tantôt légèrement incurvé; certaines préparations présentent des échantillons déformés en S allongée. Les formes les plus courtes du bacille ont 3 à  $4\ \mu$ , mais il existe aussi parfois des éléments filamenteux. Son aspect rappelle un peu celui du vibron septique; toutefois les extrémités du bâtonnet ne sont pas nettement carrées comme celles du vibron de Pasteur, elles sont amincies ou arrondies. Beaucoup de bacilles sont en voie de segmentation ou articulés deux par deux. Dans les préparations teintées dans le bleu de méthylène, le protoplasma du bacille a pris inégalement la matière colorante: raréfié et incolore en certains points, plus dense et bleu foncé en d'autres, il paraît discontinu, pseudo-sporulé. Les vacuoles claires ainsi limitées sont cependant inégales, irrégulières, non arrondies ni



ovoïdes, ce qui exclut l'idée qu'elles représentent des spores. D'ailleurs l'examen du putrilage à l'état frais et dissocié dans une goutte d'eau, ou bien fixé par la dessiccation et coloré par le procédé de Ziehl-Nilssen, ne montre pas de spores dans la continuité du bâtonnet.

Les formes d'involution n'ont pas été rares, surtout chez les malades soumis aux pansements antiseptiques. Les bacilles vacuolaires et déformés en fuseaux, à bouts amincis, sont alors assez semblables à une espèce bacillaire non cultivable que l'on rencontre quelquefois dans certaines angines diphtéroïdes. D'autres bacilles sont très pâles, échancrés sur leurs bords. On peut trouver aussi des formes très longues présentant alternativement des renflements incolores et des étranglements bien colorés, comme des chaînons articulés.

Les groupements bacillaires par 3 ou par 4 ne sont pas fréquents; en général, ces bacilles sont également répartis dans la préparation. Quelquefois, cependant, on voit des rangées de bâtonnets disposés en séries linéaires.

Ce microbe se décolore par la méthode de Gram.

Le nombre des bacilles, qui est toujours très grand, est cependant en rapport avec la gravité des cas. Dans les cas bénins, on en compte seulement 20 à 30 par champ du microscope; dans les cas sérieux, leur proportion devient colossale: la pulpe molle pseudo-membraneuse résultant de la fonte granuleuse des tissus constitue une purée bacillaire, ou plutôt *une véritable culture, parfois pure, du microbe*. A mesure que la plaie est traitée par les agents antiseptiques, le bacille est de moins en moins nombreux, tandis que le liquide ichoreux sécrété prend davantage les caractères du pus et devient riche en leucocytes. Lorsqu'il y a eu récurrence, les plaies sur lesquelles le bacille avait disparu montrent de nouveau le même microorganisme.

Ce microbe paraît offrir une grande résistance aux agents antiseptiques. J'ai pu le constater, en quantité abondante, à la surface de plaies pansées depuis 10 jours par l'iodoforme et les compresses de sublimé<sup>1</sup>.

1. Le curettage des plaies ulcéreuses et les pansements avec la poudre de chlorure de chaux à 1 p. 10, largement répandue sur les plaies, sont le mode de traitement qui a amené la disparition la plus rapide de l'agent infectieux et les résultats thérapeutiques les plus efficaces.



Des parcelles de pulpe fraîche ont été examinées dans une goutte de bouillon ou d'eau stérilisée : le bacille a paru immobile.

Le nombre des éléments cellulaires contenus dans l'exsudat est, en général, inverse de celui des microbes. Dans les cas les plus graves, les bacilles sont noyés dans un produit granuleux ou vaguement réticulé, très pauvre en cellules. Ces dernières sont dégénérées ; leur noyau est, en partie ou en totalité, dissous dans le protoplasma cellulaire. Les globules sanguins y sont assez nombreux, mais leur hémoglobine s'est diffusée dans la portion liquide de l'exsudat. Lorsque l'infection est plus légère ou que, sous l'influence du traitement, le nombre des bâtonnets diminue et leur activité s'éteint, on voit dans l'exsudat de nombreux leucocytes et de grosses cellules uninucléées. On aperçoit néanmoins le bacille caractéristique, reconnaissable à ses dimensions, son épaisseur uniforme, son aspect parfois infléchi ou légèrement sinueux, son protoplasma discontinu et aréolaire, ses extrémités amincies ou arrondies, enfin son défaut de coloration par la méthode de Gram. Dans plusieurs cas de ce genre, il existait des inclusions cellulaires manifestes ; certaines cellules à gros noyau unique avaient absorbé 1 à 3 bacilles pâles et entourés d'une auréole incolore.

En même temps que le bacille dont on vient de décrire les caractères, l'examen microscopique montre, mais d'une manière inconstante, et en proportion habituellement très faible, quelques microcoques épars ou des bacilles ténus. Mais il est une espèce adventice rencontrée beaucoup plus souvent : c'est un *spirillum* très fin, difficile à colorer, ne prenant pas le Gram, et que nous n'avons pas réussi à cultiver. La fréquence de ce spirille doit être spécialement signalée : il a été rencontré, en effet, 40 fois sur 47 cas. A la vérité et chez un certain nombre de malades, les préparations ne l'ont montré qu'à l'état rare ou très rare. Mais, dans quelques cas, la pulpe sphacélée en renfermait des quantités considérables ; deux fois, même, il était plus nombreux que le bacille.

En résumé, parmi les bactéries qui peuvent exister dans l'exsudat diphtéroïde développé sur les plaies atteintes de pourriture d'hôpital, il n'en est qu'un qui soit constant, c'est le bacille dont nous venons de donner la description. Il a été trouvé dans



tous les cas; il existait, à l'exclusion de tout autre, dans sept cas dont un très grave; on a pu le constater en proportion toujours abondante, parfois prodigieuse. A part le spirille qu'on rencontre souvent concurremment, les autres bactéries sont inconstantes et en nombre tellement faible qu'on ne saurait leur accorder qu'une importance accessoire. Si le bacille spécial, sur lequel s'est portée jusqu'ici plus particulièrement notre attention, joue un rôle pathogène dans la complication de pourriture d'hôpital, on devra le retrouver, à l'état exclusif, dans l'étude microscopique et bactériologique des tissus. C'est le point que nous allons maintenant examiner.

\*  
\* \*

Ainsi qu'il a été dit, le bacille rencontré dans la pourriture d'hôpital ne se laisse pas colorer par la méthode de Gram. Le traitement des coupes par la fuchsine phéniquée de Ziehl a donné une coloration intense et uniforme, peu élective, qui n'a pas permis d'étudier avec netteté les bactéries contenues dans les tissus. Quoique plus favorables, les procédés de Löffler et de Kuhne ont cependant paru inférieurs, dans le cas présent, à la méthode de Nicolle. Afin de faciliter la différenciation des bactéries et des tissus, nous avons un peu modifié la technique de la coloration par la thionine.

De petits fragments de tissus ont été prélevés, dans les foyers pathologiques, dans douze cas de pourriture d'hôpital. Les pièces ont été fixées dans la solution saturée de sublimé et durcies dans l'alcool de plus en plus fort. Les coupes ont été colorées, pendant 10 minutes, à froid, à l'aide de la solution phéniquée de thionine, puis soumises à l'action de l'alcool faiblement iodé (alcool absolu : 200; iode : 0,01 gr.), pendant quelques secondes, puis de l'alcool absolu ordinaire ou additionné de fluorescéine ou de safranine, pour avoir la double coloration. On éclaircit par l'huile d'aniline, on lave dans le toluène et on monte dans le baume.

De semblables préparations montrent, à un faible grossissement, deux zones bien distinctes (*fig. 2*) : l'une, superficielle, d'une épaisseur de un demi à deux et même trois millimètres, constituée par l'exsudat diphtéroïde. Cette couche est, dans sa



partie libre, de couleur gris bleuâtre, et parcourue par de fines stries plus foncées. Elle est remarquablement pauvre en éléments cellulaires. Dans sa portion profonde, elle prend une coloration d'un bleu intense. En ce point, en effet, se trouve la *couche active de prolifération bactérienne*, formant une sorte de buisson très compact, surtout au niveau de sa base d'implantation, et d'où irradient des prolongements rameux élégants qui se répandent, en s'amincissant, dans l'épaisseur de la fausse membrane. Le développement colossal de cette couche microbienne explique bien la marche aiguë de l'affection qui peut parfois, si l'on n'y met obstacle, entraîner en quelques jours la perte d'un membre.

La deuxième zone, sous-jacente à la précédente, est formée par les *tissus mortifiés*, infiltrés de sang, toujours profondément altérés par l'évolution parasitaire. Quelle que soit la nature de ce tissu, toute trace de structure définie y a disparu sur une certaine épaisseur. Au-dessous et au voisinage immédiat du district microbien, existe une agglomération particulièrement abondante de cellules embryonnaires, sorte de barrière de défense que l'organisme essaie en vain d'opposer à l'envahissement microbien, et que Heine avait déjà constatée, en 1874, dans l'examen microscopique des tissus.

A un grossissement plus fort, on retrouve, dans l'épaisseur de la couche membraneuse, où il foisonne, le *bacille* spécial que nous avons décrit dans le putrilage et l'ichor gangréneux des plaies. Il présente encore là les mêmes caractères; il est parfois allongé et filamenteux à la surface de l'exsudat, où il est moins abondant, tandis qu'il devient un peu plus court dans la profondeur, où il est aggloméré en faisceaux très denses.

Dans presque tous les fragments que nous avons étudiés, le bacille existait seul. La coloration par la méthode de Gram n'a fait découvrir que quelques microcoques isolés, plus nombreux à la surface de la pseudo-membrane. Dans trois cas, celle-ci contenait dans son épaisseur, en même temps que le bacille de la pourriture d'hôpital, le spirille qui a été signalé précédemment. Mais, dans la couche la plus profonde, en contact avec les tissus, le bacille était absolument seul.

C'est dans cette dernière couche, en effet, que le bacille forme des amas très touffus ou des rangées régulières, déployées



en éventail. Les bacilles y sont étroitement serrés, très souvent implantés perpendiculairement aux tissus sous-jacents (*fig. 3*). On aperçoit des promontoires microbiens qui s'avancent dans les tissus, ou émettent de fines irradiations dans leur profondeur. Du côté de la surface libre de la zone active des microbes, ces derniers sont, au contraire, moins nombreux et se résolvent en traînées de moins en moins denses, disposées souvent en tourbillons ou en séries parallèles.

Cette localisation des bacilles pathogènes à la surface des plaies rappelle celle du bacille de Löffler dans les fausses membranes de la diphtérie. Dans quelques cas de pourriture d'hôpital, l'examen microscopique montre cependant que le bacille ne se cantonne pas toujours exclusivement à la surface de l'ulcère, mais qu'il pénètre un peu dans les tissus où il forme un semis diffus, ou bien des amas allongés qui semblent suivre le trajet d'un vaisseau. C'est dans ces derniers cas, surtout, qu'on constate simultanément des staphylocoques et le spirille : ceux-ci semblent favoriser la pénétration du bacille pathogène dans la profondeur des tissus <sup>1</sup>.

Quelle que soit la gravité de l'affection, celle-ci reste cependant *locale*. Le bacille ne pénètre pas très loin et ne se généralise pas dans le sang. L'examen microscopique du sang, prélevé, chez les malades, à quelques centimètres de la plaie, ne montre jamais de bacilles. Les ganglions lymphatiques aboutissants sont sains. Enfin, chez un Arabe atteint de pourriture d'hôpital et ayant succombé, le sang du cœur, examiné avec soin, n'a pas davantage montré d'éléments semblables à notre microbe.

### III

#### LÉSIONS ANATOMO-PATHOLOGIQUES DES TISSUS

Une multiplication aussi abondante du bacille qu'on rencontre dans la pourriture d'hôpital n'est pas sans s'accompagner de lésions parfois considérables des tissus. Heine <sup>2</sup> a constaté, par l'examen microscopique, que l'exsudat est constitué par un

1. Chez un malade, ayant, au voisinage de sa plaie infectée, des abcès serpigneux avec décollements étendus, le pus renfermait en même temps le *Staph. aureus* et le bacille de la pourriture d'hôpital, ce dernier en proportion assez abondante.

2. *Loc. cit.*



stratum homogène, finement granuleux, contenant des monades et des globules de pus déformés d'autant plus nombreux qu'on s'avance davantage dans la profondeur. Dans les tissus sous-jacents infiltrés de lymphe coagulée, les capillaires sont oblitérés et l'on voit une infiltration de globules de pus qui se poursuit au delà de 3 centimètres.

Les traités d'anatomie pathologique ne mentionnent point, en général, les lésions pourtant très remarquables qu'entraîne ce processus ulcéro-gangréneux. Aussi nous a-t-il paru utile de décrire brièvement les particularités les plus importantes qu'a offertes l'examen histologique dans les cas étudiés.

*Cas légers.* — Lorsqu'on examine, à un faible grossissement, les coupes de la peau avoisinant immédiatement l'ulcère, et colorées par le picrocarmin ou par l'hématéine, on constate un amincissement manifeste de la couche cornée de l'épiderme. Dans certaines préparations, le *stratum lucidum* est, par contre, très épaissi et forme une large bande incolore au-dessus de la couche papillaire. Le corps muqueux de Malpighi est atrophié, les papilles sont affaissées et le protoplasma des cellules les plus superficielles de cette couche est devenu hyalin, a perdu son aspect granuleux normal; l'éléidine fait défaut. Le noyau cellulaire est cependant bien conservé.

Dans le chorion et dans la couche cellulo-graisseuse sous-jacente situés à proximité de la région ulcérée, le réseau des fibres conjonctives et élastiques entrecroisées, ainsi que les espaces lymphatiques, sont parsemés d'une infinité de jeunes cellules qu'on retrouve de plus en plus nombreuses à mesure qu'on s'approche de l'ulcération. Ces cellules immigrées forment, autour des capillaires qui rampent aux deux étages de la couche sous-épidermique, et principalement dans le stratum vasculaire sous-papillaire, des groupements volumineux qui enserrant les vaisseaux. Le réseau admirable est lui-même infiltré par des amas embryonnaires semblables. Les contours des pelotons des glandes sudoripares situées dans cette région se confondent avec les amas cellulaires infiltrés à leur voisinage; les cellules glandulaires sont tuméfiées. La lumière des tubes est elle-même obstruée par de petites cellules fortement colorées.

Les artères présentent des lésions de péri et d'endartérite. Certains vaisseaux, emprisonnés dans une production néo-



conjonctive qui a pris fortement le carmin, ont également leur lumière oblitérée par la végétation de leur tunique endothéliale. Les veinules sont thrombosées. Quelques capillaires demeurés sains et obligés de suppléer à la suractivité circulatoire et à l'oblitération des autres vaisseaux sont fortement dilatés et gorgés de sang. L'ensemble de ces altérations du système vasculaire, la stase sanguine et le défaut de nutrition qui en est la conséquence ne peuvent que favoriser la mortification et la désintégration progressive des tissus, ainsi que l'infiltration œdémateuse et inflammatoire qu'on observe souvent autour des plaies atteintes de pourriture d'hôpital.

Au fond de l'ulcère et au-dessous de l'exsudat pseudo-membraneux, les cellules embryonnaires, si abondantes, sont fortement dégénérées. Elles ont pris uniformément le carmin; leurs contours sont vagues; la chromatine du noyau s'est diffusée dans le protoplasma cellulaire; le nucléole a disparu. Les cellules conjonctives présentent les mêmes lésions de nécrose de coagulation; cependant l'altération paraît débiter par la multiplication de leur noyau et le gonflement œdémateux de leur protoplasma. Mais, bientôt nécrosées sous l'influence des *secreta* toxiques élaborés à la surface de l'ulcère, elles perdent aussi leurs contours; leur noyau se fusionne avec le protoplasma cellulaire; puis elles se résolvent en un grand nombre de granulations irrégulières de forme et de volume, qui se mélangent avec les cellules embryonnaires également digérées et morcelées. Leur ensemble forme une zone granuleuse mal colorée, dans laquelle la différenciation anatomique du tissu primitif est devenue impossible. En ces points, les couches dermiques, la *tela cellulosa*, les éléments fibreux aponévrotiques, les muscles sont méconnaissables, transformés en une masse grenue, rosée ou jaunâtre, qui se confond peu à peu avec la fausse membrane colorée en gris rosé.

Les coupes colorées au violet de méthylaniline ou à la safranine n'ont pas montré de dégénérescence amyloïde des cellules ou des vaisseaux.

*Cas graves.* — L'examen microscopique des tissus prélevés en plein foyer de pourriture d'hôpital, dans les cas graves, atteste des lésions plus considérables encore. L'ensemble de la préparation représente alors souvent un véritable tissu caver-



neux, tant est grande l'infiltration hémorrhagique qui s'est faite dans les tissus. En même temps que les cellules conjonctives et les leucocytes dégénérés, dans la trame mal conservée formée par le tissu fibreux ou cellulaire, on peut apercevoir quelques vaisseaux dont les parois, vitreuses et nécrosées, se sont laissé traverser sans difficulté par le sang. Cette dégénérescence des vaisseaux et des capillaires, en même temps que les thromboses presque généralisées des veinules, explique l'infiltration hémorrhagique intense qui se produit dans les tissus. L'ulcération ou la digestion des vaisseaux plus volumineux compris dans le foyer envahi permettent encore de comprendre les hémorrhagies très abondantes ou même foudroyantes qui peuvent se produire dans cette affection ; nous en avons vu un cas suivi de mort. La pourriture d'hôpital est, en effet, un processus *nécrogène* et *hémorrhagipare*.

Le tissu conjonctif ou musculaire est ainsi envahi, dissocié par les globules rouges formant une mosaïque régulière en certains points, ailleurs dégénérés ou fusionnés. Dans les préparations colorées à la thionine, le protoplasma des hématies s'est résolu en une infinité de petits globules réguliers, arrondis, d'un vert pâle. La trame conjonctive, distendue par l'épanchement hémorrhagique, n'est plus représentée que par quelques fibres et par des cellules plasmatiques tuméfiées, parfois vitreuses et sans noyau, ayant subi les premiers effets de la digestion microbienne.

Quelques-unes de ces dernières cellules ont présenté, dans deux cas, des prolongements en bois de cerf qui les rendent tout à fait comparables aux cellules rameuses des fausses membranes diphtériques. En s'associant entre elles, elles forment un feutrage diphtéroïde, irrégulier, rempli par une lymphe fibreuse coagulée.

Lorsque la destruction gangréneuse a atteint les parties molles profondes, ces dernières ont perdu toute trace de structure. La substance musculaire est remplacée par un tissu amorphe ou vitreux, vaguement réticulé ou fibrillaire, réfractaire à la coloration. Le sarcolemme persiste seul, mais est infiltré de jeunes cellules. Parfois, les bacilles ont pénétré dans l'intérieur du parenchyme musculaire et forment des arborisations qui suivent les espaces intermusculaires.



L'exsudat pulpeux proprement dit offre l'aspect qui a été déjà décrit. Il est le résultat de la désintégration moléculaire des tissus digérés par les diastases bacillaires. Constitué par une substance granuleuse, renfermant aussi les squelettes de nombreux globules rouges dont l'hémoglobine s'est diffusée, il est séparé du tissu ulcéré par une petite couche plus colorée, renfermant un grand nombre de leucocytes, et d'aspect vaguement strié dans les préparations colorées au picro-carmin. Nous avons vu que c'est dans cette couche intermédiaire que se fait plus particulièrement la prolifération du bacille de la pourriture d'hôpital.

#### IV

##### ESSAIS DE CULTURE

*Le bacille, si abondant dans l'exsudat pseudo-membraneux et dans l'ichor sécrété par les plaies, n'a pas pu être cultivé*, malgré les tentatives nombreuses que nous avons faites. La pulpe, recueillie avec pureté dans la profondeur des plaies infectées, a étéensemencée sur les milieux de culture usuels et dans d'autres milieux plus spéciaux tels que le sang, le bouillon additionné de sérum, l'infusion de foin; des parcelles ont encore été portées dans le sérum de sang humain; dans un cas, le sérum qui nous a servi avait été recueilli dans le cœur d'un Arabe mort avec des lésions étendues de pourriture d'hôpital. Tous ces essais de culture faits à l'air ou dans le vide sont restés infructueux. Il nous a semblé que, dans les cultures faites à l'abri de l'air, le bacille se multipliait très faiblement (?); mais un deuxième passage n'a pu aboutir.

Pensant que la présence de microbes étrangers ou de leurs produits solubles pouvait favoriser la multiplication *in vitro* du bacille morbifique, on a ensemencé la pulpe dans des cultures, stérilisées ou non, du staphylocoque doré et du streptocoque; mais ces essais ont encore donné des résultats négatifs.

Enfin, de petits tubes stérilisés ont été remplis de pulpe gangréneuse, scellés et mis à l'étuve : dans ce milieu, pourtant plus favorable en apparence, il n'y a pas eu davantage de multiplication évidente du bacille de la pourriture d'hôpital.



Nous n'avons pas constaté de sporulation de ce bacille. De la pulpe, abandonnée dans la chambre humide à la glacière, pendant vingt jours, ou bien desséchée à la température ordinaire, n'a pas montré de spores au bout de ce temps. Un assez grand nombre de bâtonnets présentaient, dans leur continuité, de petites formations ovoïdes régulières, mais ces dernières prenaient fortement les couleurs d'aniline, alors que le reste du protoplasma était incolore.

On pourrait croire que les plaies envahies par la pourriture d'hôpital, exposées à l'air et à une foule de causes de contamination, chez des sujets aussi malpropres que l'étaient les Arabes qui ont donné lieu aux présentes recherches, devaient être le réceptacle d'un grand nombre de bactéries étrangères et, en particulier, des microbes de la suppuration. Il n'en est rien, cependant. Déjà l'examen microscopique a montré, qu'à part un spirille fréquemment adjoint au bacille infectieux, les plaies ne renferment qu'un nombre restreint, parfois infime ou même nul de microcoques, et que ces derniers végètent de préférence à la surface de la production pseudo-membraneuse.

Les cultures fournissent des résultats plus précis que le simple examen microscopique. Or, si l'onensemence une parcelle de pulpe, on n'obtient qu'une fois sur deux, en moyenne, quelques colonies étrangères peu nombreuses. Le spirille, parfois si abondant, n'a jamais pu être cultivé; il ne se multiplie pas et même il disparaît lorsqu'on abandonne de la pulpe gangréneuse à elle-même, soit à l'air, soit en tube scellé.

Parmi les espèces pathogènes étrangères qui ont été rencontrées par la culture des 47 cas de pourriture d'hôpital, il faut citer : le *Staph. pyogenes albus* (19 fois), l'*aureus* (11 fois), le *Streptocoque* (10), le *Proteus vulgaris* (1), le bac. du pus bleu (2), le *B. Coli* (2), le Bacille de Friedlander (1). La plupart de ces microbes, sauf le bacille pyocyanique, étaient peu virulents pour les animaux.

## V

### RÉSULTATS DE L'INOCULATION DE LA POURRITURE D'HOPITAL AUX ANIMAUX ET A L'HOMME. PATHOGÉNIE DE L'AFFECTION.

La contagiosité de la gangrène nosocomiale a été bien mise en évidence par les observations de Danillo, A. Larrey, Delpéch,



Ollivier, etc., et, plus récemment, de Wolf<sup>1</sup>. Plusieurs chirurgiens (Pouteau, Danillo, Blackader, Lallour, Pirogoff), atteints d'excoriations à la main, ont, du reste, contracté accidentellement cette affection. Enfin Ollivier s'inocula avec succès la pourriture d'hôpital à l'aide d'une lancette chargée de virus<sup>2</sup>.

Mais, à côté de ces exemples qui établissaient, d'une manière incontestable, la nature contagieuse et virulente de cette maladie, il en était d'autres entièrement contradictoires, tels que ceux de Willaume, qui ne réussit jamais à provoquer la diphtérie des plaies. Ce chirurgien avait appliqué, sans résultat, des plumasseaux imbibés de sécrétion putride, sur des ulcères, à la surface de la peau dénudée par le vésicatoire, et même sur des plaies par armes à feu. L'inoculation directe à la lancette échoua également. Aussi, un certain nombre de chirurgiens autorisés, entre les mains desquels ces inoculations n'avaient pas davantage réussi, Percy, Richerand, Dupuytren, Marmy, Hirsch, von Pitha, etc., niaient-ils la contagiosité de cette complication. Leurs réserves semblaient encore justifiées, en apparence, par le résultat invariablement négatif qu'ont donné les essais d'inoculations aux animaux. C'est ainsi que Thomas, Percy, von Pitha, Fischer, sur des chiens et des lapins; Colin et Terrier, sur des porcs, ont tenté en vain de reproduire cette singulière affection.

Dans une première série d'expériences, j'ai moi-même multiplié les essais d'inoculation au lapin, au cobaye, au rat blanc. Des plaies, produites artificiellement, ont été pansées avec de la pulpe gangréneuse fraîche, très riche en bacilles : ces plaies ont néanmoins guéri assez rapidement, après formation d'une croûte. On a injecté une émulsion épaisse sous la peau, dans le péritoine, dans le sang (jusqu'à 4 c. c.), dans les muscles du lapin ou du cobaye, sans déterminer aucun dommage sérieux. Quelques animaux ont eu simplement des abcès locaux ou métastatiques dus aux microbes pyogènes ou au *Proteus vulgaris* contenus simultanément dans le putrilage, et la bénignité ainsi que la rareté de ces lésions montrent bien, en outre, que ces microbes adventices n'existent, dans la pourriture d'hôpital, qu'atténués et en proportion très faible.

1. Rech. sur la pourr. d'hôp. *Th. de Paris*, 1875.

2. *Traité expérim. du Typhus traumatique, gangr. ou pourr. d'hôp.*, Paris, 1822.



Pour tenter de faciliter, autant que possible, le développement expérimental de la lésion, nous avons pratiqué la section du nerf sciatique ou lié l'artère fémorale de ces animaux. On a fait ensuite, à l'extrémité des membres lésés, des plaies artificielles qu'on a recouvertes de pulpe. Les plaies se sont néanmoins cicatrisées. Nous avons eu le même insuccès en broyant complètement le membre postérieur d'un lapin et injectant, dans les tissus désorganisés, une certaine quantité de putrilage en suspension dans l'eau stérilisée.

Ces exemples montrent quelle extrême difficulté présente la multiplication du microbe de la pourriture d'hôpital, non seulement, ainsi qu'on l'a vu, dans les milieux de culture artificiels, mais encore chez les animaux. La gangrène nosocomiale est donc une maladie spécifique et *spéciale à l'espèce humaine*. Encore convient-il de faire ressortir ce fait paradoxal : que l'inoculation directe, à l'homme, dans les conditions les plus favorables à la transmission de l'affection, n'amène pas cependant, d'une manière constante, l'apparition d'une complication si éminemment contagieuse. J'ai déjà signalé les tentatives infructueuses de Willaume et d'autres expérimentateurs. Celles que j'ai faites également ne font qu'accentuer ces contradictions. J'ai pratiqué une inoculation sur moi-même, à l'avant-bras : elle n'a donné lieu qu'à une pustulette insignifiante. J'ai prié mon confrère et ami M. le Dr Gemy, médecin à l'hôpital de Mustapha, d'inoculer quelques sujets à l'aide de 4 échantillons de pulpe provenant de cas graves : les inoculations, faites sous la peau de 3 Arabes valides, sont restés complètement infructueuses.

Rapprochées des inoculations faites par de nombreux chirurgiens, et dont les-unes ont abouti, les autres ont échoué, ces expériences semblent montrer que, malgré le caractère spécifique et contagieux de la pourriture d'hôpital, cette affection n'est transmissible aux sujets sains et même aux opérés et aux blessés qu'à la faveur de *circonstances particulières* qui n'ont pas été encore suffisamment élucidées. On est donc conduit à admettre que *le microbe de la pourriture d'hôpital exige, pour se multiplier, le concours indispensable de certains facteurs adjuvants*.

La recherche de ces derniers a paru, dans l'espèce, d'autant plus importante, qu'ils pouvaient seuls nous permettre de consacrer, d'une manière plus positive, la spécificité du bacille que



nous avons décrit. En fait, les preuves qui tendent à établir que ce microbe est bien l'agent pathogène de la pourriture d'hôpital, reposent principalement, jusqu'ici, sur sa constance absolue, et sur sa présence en quantité colossale et parfois exclusive dans les lésions. La valeur de ces preuves se trouve forcément restreinte par cette raison que le bacille n'est pas cultivable et qu'il n'est pas davantage inoculable, dans les conditions habituelles, aux animaux. Mais nous allons montrer qu'il n'est pas, cependant, impossible de vaincre l'immunité de ces derniers, et qu'on peut, dans certaines conditions, reproduire chez eux une lésion expérimentale semblable à la pourriture d'hôpital, avec les mêmes altérations histologiques que chez l'homme et la même prolifération abondante du bacille pathogène.

\*  
\* \*

On peut, en définitive, ramener à deux facteurs bien connus les causes susceptibles de favoriser le développement des agents infectieux; les uns tiennent à la réceptivité du sujet, créée par la défaillance de son état général; les autres sont relatifs à la virulence spéciale du germe inoculé ou à quelque autre condition biologique capable de l'aider ou de la renforcer. C'est guidé par les expériences de Charrin et Ruffer, et par les faits qui ont été mis en relief à propos de la pathogénie du tétanos, que nous avons tenté de reproduire expérimentalement la pourriture d'hôpital en faisant précéder l'inoculation de lésions des nerfs, des vaisseaux ou des muscles. Malgré l'importance des lésions ainsi produites, on a vu que ces conditions adjuvantes se sont montrées inefficaces.

Pouvait-on espérer qu'à défaut de la réceptivité locale, l'influence de l'état général aurait, chez les animaux mis en expérience, des conséquences plus favorables au développement de la maladie?

Un lapin pesant 1,800 grammes, amaigri et atteint de cachexie tuberculeuse avancée, reçut, sous la peau du flanc, 1 c. c. d'émulsion de pulpe de pourriture d'hôpital. Au bout de 4 jours, il se forma, au siège de l'injection, une petite tumeur qui s'ouvrit au 6<sup>e</sup> jour, en laissant écouler un pus blanchâtre, fétide, contenant, à l'examen microscopique, *une assez grande quantité de bacilles.*



La poche vidée, au lieu de se cicatriser comme chez les autres animaux, s'ulcéra et se recouvrit d'un exsudat jaunâtre, épais, adhérent, à odeur mauvaise. L'examen microscopique montra encore, dans cet enduit, *la présence du même bacille*. La plaie resta atone, suppurante.

Nous avons donc obtenu la multiplication expérimentale du bacille de la pourriture d'hôpital en l'injectant à un animal dont l'état général était déjà gravement compromis par une maladie consomptive.

Le même lapin a été soumis, ainsi que 3 autres lapins valides et 2 cobayes également sains, à un jeûne de 3 jours après lequel ces animaux ont été inoculés sous la peau avec quelques gouttes d'émulsion riche en bacilles. Chez le lapin tuberculeux et affaibli à la fois par l'inanition et par la plaie diphtéroïde qu'il portait déjà, il y a eu production d'un nouvel ulcère recouvert d'une fausse membrane blanc grisâtre, odorante, dans laquelle le bacille fut trouvé en proportion plus abondante encore que précédemment. Chez les autres animaux soumis à l'influence du jeûne, mais bien portants avant l'expérience, l'inoculation resta sans résultat.

L'influence du terrain joue donc un rôle capital dans la pathogénie de l'affection; lorsque l'organisme est affaibli par une maladie antérieure, il affecte une prédisposition à la croissance du germe de la pourriture d'hôpital. L'état d'inanition favorise le processus, mais il ne suffit pas cependant, à lui seul, pour permettre le développement du bacille.

On obtient des résultats bien plus démonstratifs encore lorsqu'on renforce l'activité du bacille pathogène en lui *associant*, pour l'inoculation, divers microbes tels que ceux de la suppuration.

Un centimètre cube d'émulsion virulente est injecté sous la peau d'un lapin témoin; la même dose, mélangée de quelques gouttes de culture du streptocoque, a été injectée à un autre lapin de poids à peu près semblable. Or, le 1<sup>er</sup> animal n'a offert qu'un œdème local qui s'est rapidement résorbé; le 2<sup>e</sup> a eu un foyer d'induration rouge, chaud, douloureux, qui s'est abcédé, a donné issue à du pus fétide, et finalement s'est transformé en un petit ulcère à bords décollés, sécrétant un ichor blanchâtre putride, et recouvert d'une fausse membrane blanc grisâtre, molle, adhérente, d'une épaisseur de 2 millimètres.



Le produit du raclage de cet exsudat, coloré par la méthode de Gram, puis par la solution aqueuse de fuchsine, montre le bacille caractéristique sous forme de filaments colorés en rouge, à bouts arrondis, à protoplasma vacuolaire. Ces bacilles sont nombreux; on peut en compter parfois 10 à 12 dans le champ de la préparation. Le streptocoque a également proliféré, mais beaucoup de cocci sont intraleucocytaires. L'animal ainsi inoculé a fini par guérir après 25 jours, ayant présenté un petit abcès sous-cutané métastatique, déterminé par le streptocoque.

Le même résultat expérimental a été obtenu, le plus souvent, en associant au bacille d'autres microbes pathogènes; staphylocoque doré, *B. coli*, *B. pyocyaneus*, *B. de Friedlander*. Les plaies diphtéroïdes les plus remarquables ont été obtenues en injectant sous la peau d'un lapin en état de jeûne depuis 3 jours, une petite parcelle de pulpe desséchée depuis un mois, qu'on a broyée dans un mélange de cultures du colibacille et du *Staph. pyogenes aureus*. Il en résulta un ulcère en puits, recouvert d'une membrane épaisse; les bords étaient décollés et sécrétaient un suc blanchâtre, d'odeur putride. Le bacille spécifique y était très abondant. Fait remarquable, le *B. coli*, que ses petites dimensions rendaient facilement reconnaissable, avait presque entièrement disparu; le staphylocoque, quoique plus nombreux, n'était pas cependant très abondant.

Un fragment de la fausse membrane de ce lapin fut excisé et inséré avec pureté sous la peau d'un autre lapin. Celui-ci n'eut qu'un petit abcès local, sans production diphtéroïde et sans odeur, dont le pus renfermait seulement quelques microcoques et des petits bacilles extrêmement rares: l'affection n'avait pas été transmise. On voit donc que, de même que pour le tétanos et plus encore que dans cette dernière affection, l'inoculation en série de particules prélevées au niveau du foyer pathologique n'aboutit pas par suite de l'atténuation et de la disparition progressive des microbes favorisants.

Le lapin atteint de cachexie tuberculeuse, qui avait déjà servi à deux expériences précédentes, fut encore inoculé avec le mélange pourriture d'hôpital + *B. coli* + *Staph. aureus*. Il eut, au bout de 5 jours, une plaie ulcéreuse et pseudo-membraneuse de 4 à 5 centimètres de diamètre, avec décollement étendu; la



fausse membrane épaisse, grisâtre, pulpeuse, avait une odeur fétide et l'animal mourut au 8<sup>e</sup> jour, dans le marasme.

L'examen microscopique et bactériologique de ces lésions expérimentales si remarquables a été pratiqué dans ces divers cas et a donné lieu à des résultats concluants. Il a révélé, en effet, des lésions anatomiques et une pullulation bacillaire semblables à celles qui ont été constatées chez l'homme. La couche pseudo-membraneuse est cependant plus adhérente et plus compacte que chez ce dernier ; elle est constituée, au microscope, par des îlots irréguliers de petites cellules étroitement agglomérées et nécrosées, séparées par de larges espaces de dégénérescence vitreuse dans lesquels existent les amas bacillaires ; ceux-ci se retrouvent sous forme de touffes épaisses, de faisceaux disposés en éventail ou bien de semis diffus. La couche plus profonde de la néo-membrane est constituée par une quantité énorme de granulations teintées en bleu par la thionine, de volume et de forme très variables, résultant de la digestion et de la fragmentation des cellules immigrées et des cellules conjonctives. Au voisinage immédiat des tissus envahis, il existe également, comme dans les lésions humaines, une infiltration embryonnaire remarquable. Entre ces cellules, on retrouve des amas bacillaires réunis en faisceaux plus ou moins abondants. Parfois, les bacilles se sont agglomérés en rangées parallèles et ondulées, moins nombreuses que dans la pourriture d'hôpital humaine, mais affectant néanmoins une disposition analogue. Les bacilles s'insinuent dans les espaces conjonctifs intermusculaires ; les cellules du sarcolemme, qui sont en contact avec ces groupements microbiens, sont pâles et vitreuses. Les fibres musculaires élémentaires ainsi cernées par des trainées bacillaires, fort abondantes dans certaines préparations, sont devenues vitreuses, incolores, sans striation. Au milieu d'elles apparaissent parfois quelques bacilles isolés ou réunis en bouquets. Dans les tissus sous-jacents et non encore envahis par la végétation microbienne, on observe parfois des épanchements hémorragiques ayant dissocié les fibres musculaires. Les capillaires et les petits vaisseaux sont thrombosés.

Le même examen révèle encore une localisation particulière des microbes adjuvants qui ont été inoculés en même temps que le bacille de la pourriture d'hôpital. Le plus souvent, ces microbes



siègent surtout à la surface et dans la partie moyenne de l'exsudat membraneux. *Dans la profondeur, au contraire, les bacilles sont prédominants.*

De l'ensemble des recherches qui viennent d'être exposées, il résulte donc que deux conditions primordiales semblent permettre ou favoriser le développement de la pourriture d'hôpital : d'une part l'affaiblissement général de l'organisme et la misère physiologique engendrés par les maladies consomptives, l'inanition (et vraisemblablement les autres causes analogues) ; d'autre part l'adjonction de microbes associés au bacille spécifique. Ces microbes agissent initialement en désorganisant les tissus ; ils labourent le terrain sur lequel le bacille va s'ensemencer. Leur mission remplie, ils diminuent de nombre et vont végéter à la surface de l'ulcère, tandis que le bacille infectieux se multiplie abondamment dans la profondeur. Les microbes adventices peuvent même disparaître presque entièrement, ainsi que les examens bactériologiques pratiqués chez l'homme nous l'ont montré, et qu'ils l'ont en partie confirmé chez quelques animaux. Cette localisation précoce des microbes favorisant à la surface de la fausse membrane, leur disparition ou, du moins, leur diminution très notable, ne laissent pas d'être un phénomène assez singulier. Peut-être l'exsudat diphtéroïde, si riche en bacilles, et résultant de la fonte granuleuse et putride des tissus digérés, est-il devenu rapidement impropre à leur multiplication ? Ainsi s'expliquerait encore leur atténuation dans l'épaisseur de l'exsudat. Il sera rappelé que les microbes adventifs, en général peu nombreux, que nous avons isolés chez les malades (Staph. pyogène, Streptocoque, colibacille, B. de Friedlander, etc.) étaient très peu actifs à l'égard des animaux, sauf le B. pyocyanique, dont les cultures étaient mortelles pour ces derniers. J'ai, du reste, mélangé à divers échantillons d'ichor gangréneux une trace de ces divers microbes, et j'ai pu constater qu'effectivement, à la température de 37°, ils n'y prospèrent pas, mais diminuent peu à peu de nombre.

\*  
\* \*

Appliquant à la pathologie humaine les données qui découlent de ces recherches et de l'expérimentation sur les animaux,



on voit qu'elles permettent d'interpréter la pathogénie de la pourriture d'hôpital, sa nature virulente, sa contagiosité facile sur les plaies non bourgeonnantes envahies par des microbes étrangers tels que ceux de la suppuration. Elles éclairent aussi quelques-unes des contradictions que présente l'histoire de la maladie. Si, dans des faits assez fréquents, notamment dans ceux qui nous sont personnels, elle n'a pu être communiquée à l'homme par l'inoculation, c'est sans doute parce que les sujets n'étaient pas en état de déchéance organique favorable à cette transmission; ou que le virus inoculé, quoique très riche en bacilles, ne renfermait plus qu'un nombre insuffisant de microbes adjuvants, atténués eux-mêmes et incapables de mettre en branle le processus gangréneux et putride. A l'exemple de ce qui a été observé pour le charbon symptomatique par Roger, pour le tétanos par M. Vaillard et nous-même, pour le choléra par Metchnikoff, pour le vibron septique par Besson, on voit que le bacille de la pourriture d'hôpital ne paraît que difficilement susceptible, à l'état isolé, de fomentier les lésions précisées. Il lui faut le concours préalable d'autres bactéries pathogènes telles que celles qui existent dans les vêtements, à la surface de la peau (Remlinger) ou dans le sol. Par les désordres anatomiques qu'ils suscitent, ces microbes préludent à la formation de l'ulcère gangréneux avant que de céder la place au bacille spécifique. Il est fort vraisemblable que le spirille non cultivable, que nous avons trouvé si souvent associé au bacille de la pourriture d'hôpital, joue, chez l'homme, un rôle favorisant analogue; sa fréquence (40 fois sur 47 cas), son abondance extrême dans certains cas, viennent à l'appui de cette proposition.

Il devient, dès lors, aisé de comprendre combien toutes les conditions de développement de la diptérie gangréneuse des plaies se trouvaient autrefois réunies chez les sujets hospitalisés, minés par la fièvre de suppuration, l'érysipèle et les autres infections accidentelles; ou chez les soldats blessés, soumis à des fatigues excessives, aux cruelles péripéties de la guerre, et porteurs de blessures contaminées par la terre et les vêtements souillés. Ces conditions ne se sont-elles pas rencontrées chez nos malades, dont beaucoup étaient, en outre, impaludés et diarrhéiques? Malgré la résistance très grande que présente, ainsi que nous l'avons vu, le bacille de la pourriture d'hôpital à l'égard des



agents antiseptiques tels que le sublimé, la chirurgie actuelle a, fort heureusement, fait disparaître cette complication si redoutable, en prévenant ou combattant la suppuration, et en neutralisant les microbes adventices qui pourraient faciliter la prolifération de l'agent infectieux spécifique.

---

## EXPLICATION DES FIGURES

---

*Fig. 1.* — Pourriture d'hôpital; cas de moyenne gravité. Frottis fait avec l'exsudat pulpeux. Bacilles avec association spirillaire.

*Fig. 2.* — Coupe d'un fragment de tissu envahi (Oc. I, Obj. II, Vér.).

*a).* Zone granuleuse ou amorphe, nécrosée, très pauvre en éléments cellulaires, et formant la portion superficielle de l'exsudat pseudo-membraneux.

*b).* Couche microbienne active, constituée par une accumulation considérable de bacilles.

*c, c).* Nombreuses cellules embryonnaires au voisinage du foyer microbien.

*d).* Tissu mortifié, sur lequel s'est développé le processus ulcéro-gangréneux. On y voit quelques vaisseaux thrombosés. La structure du tissu est devenue méconnaissable.

*Fig. 3.* — Même coupe, vue à un fort grossissement.

*a).* Portion de l'exsudat diphtéroïde, contenant un grand nombre de bacilles.

*b).* Zone bacillaire active.

*d).* Tissu sous-jacent dissocié par une infiltration hémorrhagique intense (*h, h*).

---



# L'ACTION BACTÉRICIDE DES EAUX DE LA JUMNA ET DU GANGE SUR LE MICROBE DU CHOLÉRA

« PAR M. E. HANKIN

Du laboratoire du gouvernement. Agra, Inde.

---

Quand on voit, à la traversée du Gange ou de la Jumna, au milieu d'une des grandes villes indiennes, des milliers d'habitants se laver, eux, leurs troupeaux et leurs vêtements dans une eau trouble et sale, et quand on songe que fréquemment des cadavres à moitié brûlés trouvent leur dernier asile dans le fleuve, on est bien excusable de penser que ces eaux doivent être dangereuses à consommer, et que la vénération des Hindous pour leur fleuve sacré prouve leur ignorance de toute idée de santé ou de propreté. C'est ce que pensent les autorités européennes, et, en ce qui concerne la distribution du choléra, elles considèrent volontiers le Gange comme le principal agent de la transmission de la maladie dans son pays d'origine, et comme le père nourricier de son microbe.

Un simple examen microscopique des eaux de ces deux fleuves révèle pourtant une remarquable différence avec les eaux des fleuves européens ayant le même degré de trouble. On trouve dans ces dernières des débris végétaux et animaux abondants, beaucoup de microbes et de formes vivantes végétales et animales. L'eau du Gange ou de la Jumna ne présente au contraire aucune trace de matières organiques, à moins qu'elle ne soit recueillie au voisinage d'un *bathing ghat* (lieu de baignades) au-dessous de la ville. Le limon emporté par le fleuve est presque exclusivement du sable ou du mica. L'examen bactériologique prouve que les microbes sont beaucoup plus rares que dans des rivières européennes de même importance<sup>1</sup>. Nos rivières sont

1. *Sur les microbes des rivières de l'Inde*. Communication au congrès médical indien tenu en décembre 1894.



souvent privées d'herbes aquatiques et de toute autre forme de vie végétale.

Un examen plus serré révèle de nombreuses raisons pour cette pureté bactériologique comparative. Dans l'Inde, il n'y a pas de large réseau d'égouts se déversant dans le fleuve. Il y a bien, dans les grandes villes, des égouts de surface, mais, pendant la plus grande partie de l'année, leur apport est négligeable. On ne trouve non plus que rarement des usines, chimiques ou autres, placées comme en Europe sur le bord des fleuves, et contribuant à la pollution de leurs eaux.

La meilleure protection des eaux indiennes dans la région que je connais le mieux (partie centrale de la plaine du Gange), c'est que leurs rives sont frangées par des zones de région stérile, ayant souvent un à deux milles de large, souvent coupées par des ravins, et ne portant que peu de villages. Après avoir reçu la pollution d'une grande ville, le fleuve reste à l'abri de tout apport appréciable nouveau jusqu'à la prochaine grande ville qui est quelquefois 200 milles plus loin. J'ai trouvé que dans les limites des provinces du N. W., la Jumna devient d'autant plus pure qu'elle est plus éloignée de sa source. Il n'y a que deux villages sur ses rives jusqu'à 12 milles et demi au-dessous d'Agra. Il n'y en a que trois jusqu'à 23 milles en amont, et sans que l'on puisse préciser, je crois qu'aucun de ces villages ne compte plus de 500 habitants.

Le pouvoir auto-purificateur qui dépend de l'action de l'air et de la lumière doit sans doute être beaucoup plus actif dans l'Inde qu'en Europe. Les larges rivières des provinces du N. W. courent en couches minces et sinueuses au milieu de bancs de sable, et sont dans de bonnes conditions pour éprouver l'action de la lumière et de l'oxygène, qu'aide l'action d'une température plus élevée qu'en Europe.

Les eaux de ces fleuves proviennent en outre, pendant une grande partie de l'année, non des pluies ou des drainages superficiels, mais de la fonte de neiges, pures de microbes, des hauts sommets de l'Himalaya. Leur origine est plus pure de germes que pour les rivières européennes qu'alimentent des eaux de pluie ayant lavé la surface du sol.

Au commencement des dernières chaleurs, la rivière étant exceptionnellement basse, j'ai trouvé dans la Jumna :



56 à	76 microbes par c. c.	à 5 milles au-dessus d'Agra.
700 à	750 — —	en face de la prise d'eau.
3,000 à 25,000	— —	en face de la ville et au-dessous.

De ce point, le nombre des microbes présents allait en décroissant rapidement jusqu'à un point situé à 12 milles et demi, où le chiffre n'était plus que de 128 à 130 microbes par c. c.. Plus tard, pendant les chaleurs (11 avril), la rivière étant très basse, et n'ayant plus qu'un léger courant, le nombre des microbes dans l'eau prise au-dessous de la ville dépassait toujours 100,000 par c. c. et n'a pu être évalué exactement. Mais, à trois milles plus bas, il n'y en avait plus que 90 à 100, et que 26 à 80 à 12 milles et demi de la ville.

Voici les chiffres trouvés par c. c., à la prise d'eau des services hydrauliques, à différentes époques de l'année : chaque nombre est la moyenne d'au moins trois observations.

Janvier .....	1,680	} temps froid, et de temps en temps petites pluies.
Février .....	1,084	
Mars.....	1,133	
Avril .....	580	} temps chaud et sec.
Mai.....	662	
Juin .....	725	
Juillet.....	2,900	} saison pluvieuse.
Août.....	3,140	
Septembre .....	1,033	
Octobre.....	2,183	} temps froid et sec.
Novembre.....	850	
Décembre.....	1,016	

Quelques impuretés d'un village et d'autres origines arrivent dans la rivière au niveau de la prise d'eau. La pureté doit donc être moins grande que dans les observations citées plus haut, et faites à cinq milles en amont.

## II

Ces observations sur la pureté bactériologique du Gange et de ses affluents ne jettent aucune lumière sur ce qui a été longtemps l'objection principale faite par l'expérience indienne à l'idée que le choléra pouvait avoir une origine hydrique. La loi fondamentale du progrès des grandes épidémies indiennes est que, commencées



dans le Bengale, elles remontent le courant et ses affluents. On n'a jamais vu d'épidémies descendant la Jumna et le Gange. Comment cela se fait-il, si le choléra est d'origine hydrique ? Comment se fait-il que lorsque le choléra éclate sur un lieu de pèlerinage placé sur les rives d'un des fleuves, il ne descende pas dans les villages placés en aval sur les rives, à moins qu'il n'y soit transporté par des pèlerins qui y reviennent ?

On ne peut pas expliquer un fait si extraordinaire en supposant que le microbe du choléra n'arrive pas dans l'eau du fleuve. A moins de nécessité absolue, aucun natif n'utilise, il est vrai, les bords du fleuve pour ses besoins naturels, parce qu'il en regarde les eaux comme sacrées <sup>1</sup>. Mais, en l'absence de cette source de pollution, il y en a beaucoup d'autres. Mentionnons d'abord les eaux de drainage des grandes villes. J'ai trouvé le microbe du choléra dans l'eau d'un drain d'Agra, s'écoulant dans le fleuve. Le lavage des vêtements et les baignades sont une autre source de contamination. J'ai plusieurs fois <sup>2</sup> trouvé le microbe du choléra dans la Jumna et le Gange, aux lieux de baignades, durant les fêtes du pèlerinage d'Allahabad et d'ailleurs. Mais la voie la plus apparente d'infection est la pratique de jeter dans les fleuves les cadavres des cholériques. D'ordinaire ces cadavres sont partiellement brûlés avant d'être lancés dans le fleuve sacré. Mais, dans beaucoup de districts, les cadavres de cholériques ne sont pas soumis au préalable à l'influence purificatrice du feu. Autant que j'ai pu le savoir, cette coutume vient de ce que la mort par le choléra apparaît comme un jugement de Dieu : la victime est considérée comme « damnée sans rédemption », et ce serait perdre son feu que de brûler son cadavre.

Il m'a semblé que les faits ci-dessus tenaient peut-être à ce que l'eau de la Jumna et du Gange ne pouvaient pas entretenir la vie du microbe du choléra, à cause du manque de matières nutritives. Les expériences suivantes, faites pour vérifier cette possibilité, m'ont conduit à découvrir que ces eaux contiennent un

1. Les natifs ne se font pas scrupule de s'accroupir à quelques distance de la rive. Leurs déjections sont rapidement enlevées par les animaux, ou desséchées et rendues inoffensives par le soleil de l'Inde. Mais le bord de la rivière est libre de toute pollution de cette origine. Cependant on sème des concombres sur les bancs de sable laissés à sec pendant les chaleurs, et on les fume avec des déjections humaines. C'est une source de contamination de l'eau du fleuve.

2. Observations sur le choléra dans l'Inde. *Indian med. gazette*, mai, 1895.



antiseptique exerçant une action bactéricide puissante sur le microbe du choléra.

Cette action n'a apparu que faiblement dans mes premiers essais, parce que, comme je l'ai vu plus tard, je stérilisais mon eau en la chauffant dans l'autoclave. C'est ce que nous montre l'exemple suivant. Dans cette expérience et les suivantes, le mot « bouilli » est l'abréviation de chauffé une demi-heure à 115° dans l'autoclave. A de l'eau ainsi chauffée et provenant de diverses origines, on a ajouté des microbes du choléra, et on en a fait des cultures aussitôt après l'addition, et à diverses intervalles. Voici les chiffres obtenus :

Eau de	Nombre de colonies après							
	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.	24 h.	28 h.
Jumna bouillie	12,500	20,000	17,500	30,000	32,000	26,000	4,000	5,000
Du robinet —	14,000	17,000	17,500	21,000	20,000	19,000	17,000	15,000
Gange —	10,000	8,000	12,500	5,000	13,000	20,000	18,000	15,000
Zem-Zem —	10,000	21,000	28,000	50,000	60,000	90,000	80,000	100,000

On voit que dans l'eau de la Jumna et l'eau de robinet à Agra (qui est l'eau de la Jumna), il n'y a pas de destruction marquée de microbes, tandis qu'il y a un léger accroissement dans les deux dernières eaux. Avec l'eau de la célèbre source de Zem-Zem, la source sainte de la Mecque, le nombre des microbes du choléra est devenu dix fois plus grand en 24 heures. Voici maintenant les différences obtenues en remplaçant le chauffage à l'autoclave par la filtration.

Eau de	Nombre de colonies après.						
	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	25 h.	49 h.
Gange filtrée.....	5,500	3,500	200	0	0	0	0
— bouillie.....	6,000	5,000	6,000	6,400	4,000	3,800	15,000
— bouillie et filtrée.	7,000	8,000	8,000	7,500	6,000	3,000	—
Puits filtrée.....	8,500	8,000	7,500	10,000	80,000	4,000	15,000
— bouillie.....	7,500	10,000	12,000	14,000	16,000	30,000	25,000

On voit que l'eau du Gange non bouillie tue le microbe du choléra en moins de 3 heures. La même eau, bouillie, n'a pas la même action. L'eau de puits est, au contraire, un bon milieu pour ce microbe, qu'elle soit bouillie ou filtrée; c'est le filtre Pasteur qui a été utilisé dans cette expériences et les suivantes. Dans chaque expérience, de nombreuses observations de con-



trôle ont été faites pour prouver la pureté des cultures et sous-cultures.

Voici maintenant qui montre que l'action bactéricide n'est pas due à l'absence de matériaux nutritifs dans les eaux.

Eau de	Nombre de colonies après					
	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	24 h.
Jumna filtrée.....	4,200	800	0	0	0	0
Eau distillée.....	4,500	5,000	6,000	5,500	200	12,000

Il m'est pourtant arrivé souvent de voir les microbes du choléra mourir dans l'eau distillée, mais jamais aussi vite que dans les eaux de la Jumna ou du Gange. Je stérilisais, d'ordinaire, mon eau par filtration. Pour savoir si les propriétés bactéricides n'étaient pas dues à ce traitement, j'ai, dans une expérience, ajouté des microbes du choléra à de l'eau de la Jumna, non stérilisée, et j'ai trouvé, par la méthode ordinaire des cultures sur peptone, qu'ils mouraient en moins de quatre heures.

Pour donner tout avantage au microbe du choléra, dans les expériences suivantes, je me suis servi d'une culture dans l'eau de la Jumna, stérilisée et additionnée de traces de peptone et d'un peu d'alcali. Onensemait ce milieu 2 ou 3 jours avant l'expérience, en faisant chaque jour une nouvelle culture. On essayait ainsi d'acclimater le microbe dans l'eau de la Jumna, pour éviter un passage trop brusque de son milieu riche de culture, dans une eau pauvre comme l'est celle du fleuve. Mais le microbe du choléra n'est pas très sensible à des changements. Le bacille typhique l'est davantage, comme l'a montré M. Haffkine (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. iv. p. 363, 1890). Néanmoins, ce bacille n'est pas tué par l'immersion dans l'eau de la Jumna, dans les conditions du laboratoire, ainsi que le prouvent les expériences suivantes :

B. typhique acclimaté dans le bouillon et placé ensuite dans	Nombre de colonies après					
	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	24 h.
Eau de puits.....	500	100	100	150	100	20,000
Eau du robinet.....	250	50	100	50	50	15,000
B. typhique acclimaté dans l'eau et placé ensuite dans						
Eau de puits.....	800	600	100	200	250	50,000
Eau du robinet.....	900	100	200	150	100	90,000



Le bacille typhique avait été acclimaté dans le bouillon ou l'eau trois jours avant l'expérience, par des cultures fraîches faites chaque jour. L'eau du robinet vient de la Jumna, comme nous l'avons dit, et exerce, d'ordinaire, une action bactéricide sur le microbe du choléra.

J'ai déjà indiqué les effets du chauffage sur l'eau du Gange. Voici l'effet sur l'eau de la Jumna additionnée de cultures du second vaccin de Haffkine.

Eau de	Nombre de colonies après						
	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	25 h.	49 h.
Jumna filtrée.....	2,500	1,500	1,000	500	0	0	0
— — .....	5,000	4,000	3,000	3,000	2,000	0	0
— bouillie et filtrée....	5,000	4,000	6,000	5,000	6,000	10,000	36,000
— bouillie.....	6,000	5,000	4,500	4,000	4,000	3,000	8,000

Les expériences ci-dessus ont été faites avec les cultures du second vaccin de Haffkine. Il était nécessaire de savoir si la même action bactéricide des eaux du Gange et de la Jumna se manifestait sur les microbes du choléra indien. Je me suis servi pour cela d'un microbe provenant d'une épidémie qui a éclaté à Bellary (présidence de Madras).

Choléra de Bellary.		Nombre de colonies après					
Eau de		0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	25 h.
1 Jumna filtrée.....		8,000	4,000	3,000	100	0	0
2 — — .....		6,000	5,000	4,500	0	0	0
3 — — .....		9,000	5,000	4,000	160	0	0
4 robinet — .....		7,000	4,200	100	0	0	0
5 — — .....		8,000	4,000	200	0	0	0
6 Gange — .....		8,000	8,000	6,000	8,000	12,000	21,000
7 — — .....		6,500	7,000	7,000	4,000	12,000	24,000
Vaccin de Haffkine.							
1 Jumna filtrée.....		10,000	3,000	450	0	0	0
2 — — .....		8,000	2,000	400	50	0	0
3 — — .....		10,000	4,500	450	100	0	0
4 robinet — .....		7,500	3,000	450	50	0	0
5 — — .....		7,000	4,000	100	0	0	0
6 Gange — .....		9,000	3,000	4,250	4,000	2,000	20,000
7 — — .....		8,000	5,000	4,000	2,800	3,000	25,000
Contrôle. Eau de puits.							
1 choléra de Bellary....		7,000	8,000	10,000	10,000	20,000	18,000
2 — — .....		8,000	10,000	11,000	10,000	16,000	16,000
3 vaccin de Haffkine....		9,000	8,000	3,000	4,000	9,000	28,000
4 — — .....		8,000	8,000	2,500	2,000	6,000	25,000



Dans cette expérience, l'eau de la Jumna tuait les microbes du choléra qu'on y introduisait, qu'elle fût prise directement dans le fleuve ou soumise d'abord à la filtration au travers du sable, et passée ensuite au purificateur Anderson. L'effet était le même sur des microbes provenant d'un choléra du Tonkin ou de l'épidémie de Bellary. Au contraire, l'eau du Gange n'a exercé aucune action dans aucun cas. Pour éviter toutes les causes d'erreur, tous les tubes contenant les spécimens des eaux étaient des tubes récemment venus d'Europe, neufs, et lavés simplement à l'eau du robinet. J'ai souvent pris cette précaution sans avoir pourtant de raison de penser qu'elle soit absolument nécessaire.

Dans un autre cas, l'eau du Gange s'est aussi montrée sans action. Je crois que cela tient à ce que, avant de m'arriver, elle doit passer une longue journée en chemin de fer, et que 50 ou 60 heures s'écoulent avant le moment de la prise et celui de l'étude. L'expérience suivante montre que l'eau de la Jumna perd peu à peu son action sur le microbe du choléra. Les échantillons dits conservés ont été prélevés plusieurs heures avant l'expérience.

	Nombre de colonies après						
	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	29 h.	53 h.
Eau conservée dans une bouteille.							
1 robinet filtrée .....	3,000	1,800	15,000	1,500	1,800	7,000	18,000
2 — bouillie .....	3,600	3,000	800	4,000	750	10,000	22,000
Eau conservée dans du fer-blanc.							
1 robinet filtrée .....	3,000	1,300	1,100	1,000	700	24,000	8,000
2 — bouillie .....	2,900	3,200	2,800	3,000	3,100	36,000	30,000
Eau fraîchement prélevée.							
1 robinet filtrée .....	4,000	1,500	750	250	50	0	0
2 — bouillie .....	4,000	4,000	5,000	5,100	5,000	6,000	18,000

On pourrait objecter à ces expériences que les microbes ne sont peut-être pas tués par les eaux de la Jumna ou du Gange, mais seulement assez changés pour être incapables de se reproduire et de former des colonies sur gélose. Pour éviter cette objection, j'ai, à diverses reprises, ajouté de la peptone et de l'alcali dans le mélange en apparence stérile de l'eau de la Jumna et du microbe du choléra, 5 à 24 heures après qu'il avait été fait. J'avais vu, auparavant, que cette addition enlève à l'eau de la Jumna tout pouvoir bactéricide sur le microbe du choléra, et



d'un autre côté, la solution de peptone est, pour ce microbe, le meilleur terrain de culture que nous connaissions. Comme les tubes d'eau de la Jumna ainsi traités sont demeurés stériles, c'est bien la preuve que les microbes du choléra avaient été tués. Ces tubes furent ensemencés, 2 ou 3 jours après, avec des microbes du choléra, et donnèrent une belle culture. Le milieu était donc favorable.

J'ai montré que l'eau de la Jumna perd son pouvoir par le chauffage. On doit donc se demander si la substance bactéricide est détruite par la chaleur, ou si c'est une substance volatile qui est éliminée du liquide. Pour le savoir, j'ai chauffé de l'eau de la Jumna dans des tubes hermétiquement scellés; elle doit perdre tout pouvoir bactéricide, s'il y a destruction par la chaleur, et le conserver, s'il est dû à une substance volatile qui ne peut plus s'échapper, le tube n'étant ouvert que lorsqu'il est froid. C'est ce dernier cas qui se réalise, comme le montre l'expérience suivante.

Eau de	Nombre de colonies après							
	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 a.	5 h.	24 h.	48 h
Jumna ch. en tube scellé.	2,400	150	50	0	0	0	0	0
— — — — —	4,500	50	0	0	0	0	0	0
Jumna filtrée . . . . .	4,000	450	300	350	50	0	0	0
— avec								
1 g <sup>te</sup> sol. de Na CO <sup>3</sup> à 10/0	4,500	900	200	100	250	300	1,200	0
Jumna ch. en tube ouvert.	4,800	4,000	4,250	600	4,900	4,500	3,800	2,500
Puits, filtrée, . . . . .	4,000	800	500	750	800	900	4,800	4 000

Même résultat dans l'expérience suivante :

	Nombre de colonies après						
Eau de	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	24 h.	
Jumna ch. en tube scellé. . . .	4,200	4,109	0	0	0	0	
— — — . . . .	3,500	100	0	0	0	0	
— en tube ouvert. . .	4,000	3,500	5,000	4,500	5,000	22,000	
— ch. dans caps. platine.	5,000	3,750	4,000	5,000	4,500	2,000	
Eau distillée . . . . .	4,500	4,000	6,000	5,500	200	12,000	
Jumna filtrée. . . . .	4,200	800	0	0	0	0	

Ces deux expériences montrent que l'eau de la Jumna, chauffée en vases clos, reste capable de tuer les microbes cholériques, et qu'elle perd son pouvoir quand on la chauffe en matras fermé par du coton ou dans la capsule de platine un peu profonde employée dans cette expérience. Elle la perd aussi



quand on l'alcalinise légèrement avec du carbonate de soude.

Dans la seconde de ces expériences, l'eau venait de Kailasi-Ghat, localité située environ à vingt-deux milles en amont d'Agra. Ce n'est donc pas seulement au voisinage de la ville que l'eau possède son pouvoir ; mes expériences ont du reste été faites à toutes les époques de l'année, sauf pendant les pluies.

A de certaines saisons, la totalité de la Jumna est jetée à Delhi, à 200 milles au-dessus d'Agra, dans le canal Agra-Delhi. La chose est si bien faite qu'on calfate les joints de la charpente, à l'écluse de Delhi, pour ne laisser échapper aucune goutte du précieux liquide. Toute l'eau qu'on trouve dans la rivière à Agra est donc de l'eau de surface. Le pouvoir bactéricide y persiste, comme lorsqu'il y a un mélange de l'eau des neiges de l'Himalaya. Cette eau de surface est aussi celle qui alimente les puits, où elle n'a pas, comme nous l'avons vu, de propriété bactéricide. La propriété antiseptique qu'elle possède d'ordinaire ne lui vient donc ni de l'eau de fonte des neiges ni de l'eau de surface, elle est due à une substance inconnue formée dans le fleuve, ou recueillie par lui *in situ*. La même substance paraît être présente dans le Gange. Il est improbable au plus haut degré qu'elle existe dans les divers cours d'eau de l'Himalaya, dans les provinces centrales, ou dans la présidence de Madras, où on sait que l'eau est capable de transmettre l'infection.

Je ne puis rien ajouter sur la nature et l'origine de cette substance : je ne sais qu'une chose, c'est qu'elle est volatile.

Il m'a semblé important de savoir si cette action bactéricide de l'eau de la Jumna était la même au-dessus et au-dessous de la ville, c'est-à-dire si elle était influencée par tout ce que la ville déverse dans le fleuve. Pendant la saison froide de 1895-1896, j'ai trouvé une occasion bien favorable de faire cette étude ; à cause d'un déficit dans les pluies, la rivière était anormalement basse, si bien que le fonctionnement du service hydraulique en a été embarrassé. Le courant était donc très lent, et la pollution provenant de la ville, des lavoirs, des bains, des drains et des couches à melons était beaucoup plus concentrée qu'à l'ordinaire. Un système de pavage avec écoulement des eaux de surface introduit dans quelques quartiers de la ville augmentait l'apport des drains. L'eau de l'un d'eux contenait 8 millions de microbes par c.c.



Il m'a semblé aussi utile de chercher si les cadavres qu'on jette constamment dans ce fleuve au lieu de crémation au-dessous de la ville influent sur la propriété bactéricide de l'eau.

Au moment de l'expérience, une espèce d'*influenza* augmentait la mortalité en ville, et le courant était trop faible pour emporter les cadavres aussi rapidement qu'à l'ordinaire. Il n'était pas rare d'en voir flotter 8 ou 9 sur un parcours de quelques centaines de mètres.

Ces conditions étaient évidemment favorables à l'expérience. Je recueillis de l'eau au-dessus de la ville, puis au-dessus et au-dessous de la place où se font les crémations. Il était bien facile de recueillir de l'eau au voisinage d'un cadavre immergé depuis quelque temps. Mais rien n'a été plus pénible que d'en recueillir au voisinage d'un cadavre qu'on venait de jeter à l'eau. J'attendais la chute sur mon bateau, et je poussai sur le corps aussi vite que possible. Je crois bien que je suis arrivé une minute ou une minute et demi après la chute d'un cadavre à demi carbonisé. Mais déjà il était attaqué par quatre grandes tortues, si occupées à leur repas qu'elles ne tinrent aucun compte des vigoureux coups que je leur assénais avec un lourd bambou, et que c'est seulement après dix minutes que je pus les éloigner. Je poussai le cadavre sur un bas-fond, et quand il fut échoué, je plongeai mon flacon à son voisinage, de sorte que l'eau recueillie recevait toutes les effluves pouvant sortir de son corps. Bien que l'œuvre des tortues ait été interrompue aussitôt que possible, la tête, les bras, les viscères et la partie inférieure des jambes manquaient déjà. Ceci montre quels excellents croque-morts sont ces tortues. Si la tête du cadavre n'était pas rompue pendant les funérailles, elle demeurerait intacte. Mais elle manque d'ordinaire aux cadavres flottants. Aussitôt après leur chute, ce ne sont pas seulement les portions ci-dessus mentionnées qui sont enlevées par les tortues, mais aussi toutes les masses musculaires du tronc que la tortue peut mordre. Il n'y a aucune odeur putride, sauf dans le cerveau. Si le corps échoue sur un banc de sable, les vautours et autres oiseaux carnivores le nettoient jusqu'aux os.

Je plongeai une pipette au milieu des masses musculaires d'un ancien cadavre, auprès duquel j'avais recueilli de l'eau, et j'ai étudié bactériologiquement l'eau de cette provenance. Elle contenait 40,000 microbes par c.c. Si le cadavre avait séjourné



dans la Tamise, le nombre eût été probablement beaucoup plus considérable.

L'eau coulant au voisinage du cadavre à ce moment contenait environ 20,000 microbes par c.c., à cause des impuretés provenant de la ville, de sorte que la contamination qui provient des cadavres au voisinage d'Agra me semble négligeable, et que ce n'est qu'au point de vue sentimental que la pratique de jeter dans le fleuve des cadavres à moitié calcinés me semble ne pas pouvoir être recommandée.

Tout ce qui accompagne cette coutume est répulsif pour nos goûts européens. Heureusement, durant cette désagréable aventure, à cause de mon désir de recueillir l'eau avant que les parents du mort aient eu le temps de revenir de leur étonnement, je n'accordai que peu d'attention aux vautours volant en rond au-dessus de moi, aux tortues d'un mètre de long nageant sur le banc avec des pièces de chair humaine à la bouche, ou à l'odeur des cadavres qu'on brûlait. Les résultats suivants montrent qu'il n'y a pas d'objection pratique à faire à cette coutume.

Eau de	Nombre de colonies après						
	0 h.	1 h.	2 h.	3 h.	6 h. 1/2	21 h.	45 h.
Jumna au-dessus de la ville.	1,200	200	0	0	0	0	0
— au-dessous —	1,500	0	0	0	0	0	0
— près d'un cadavre vieux.	1,250	50	6	0	0	0	0
— — nouv.	2,000	500	200	0	0	0	0
Jumna, au-dessus de la ville, bouillie. . . . .	1,250	1,200	1,500	200	1,000	2,000	25,000
Jumna, au-dessous de la ville, bouillie. . . . .	1,000	2,000	500	800	1,000	13,000	6,000
Puits, bouillie . . . . .	1,200	1,250	1,700	1,200	1,500	3,000	16,000

Il semble donc que toutes les impuretés provenant d'une grande ville, aussi bien que la pratique de jeter dans le fleuve des cadavres à demi carbonisés, sont sans influence sur le pouvoir qu'a l'eau de la Jumna de détruire le microbe du choléra.

### III. CONCLUSION

Quoique l'intérêt scientifique des résultats qui précèdent soit limité par ce fait que je n'ai pas encore découvert la nature et l'origine de la substance antiseptique présente dans l'eau du Gange



et de la Jumna, ils me semblent intéressants en ce qu'ils expliquent pourquoi dans l'Inde le choléra ne descend pas les fleuves. Ils ont en outre des applications pratiques, ainsi que je l'ai montré dans un livre <sup>1</sup> que je viens de publier sur le choléra. Pour citer un exemple qui peut intéresser les lecteurs européens, ils suggèrent que dans les pèlerinages hindous aux lieux sacrés des rives du Gange et de la Jumna, il y aurait avantage à déconseiller l'usage des eaux de puits, et à encourager l'usage des eaux de la rivière. Cela serait sans doute facile, car les pèlerins regardent à la fois cette eau comme sainte et comme stimulant la digestion. Je crois qu'une grande partie des dangers des pèlerinages annuels à la célèbre et grande foire d'Hurdwar, par exemple, pourraient disparaître en fermant les 5 ou 6 puits qui existent en ce point.

---

1. *Le Choléra dans les cantonnements indiens*, publié par Deighton-Bell et C<sup>ie</sup>, Cambridge, Angleterre.



# ÉTUDE SUR LE LEVAIN LACTIQUE

PAR JEAN EFFRONT

Professeur à l'Université Nouvelle de Bruxelles.

---

## I

Dans les distilleries de grains et de mélasses, l'emploi direct de la levure de bière présente de grands inconvénients. Au laboratoire, on peut, avec des quantités minimales de ferment, transformer des proportions relativement grandes de sucre, mais dans la pratique, le rapport entre la levure à ajouter et les substances à transformer est forcément beaucoup plus grand, car la durée de la fermentation est limitée.

D'un autre côté, l'emploi dans la fermentation de grandes quantités de levure influence défavorablement le rendement alcoolique et relève le prix de revient.

C'est pour cette raison que, dans la pratique, il est indispensable de faire subir à la levure un traitement spécial, propre à augmenter sa force fermentative.

Ce résultat est atteint en distillerie par le procédé du levain lactique, procédé fort intéressant à différents points de vue.

On ne connaît pas le nom de son inventeur, et les premiers renseignements sur son application datent d'une cinquantaine d'années.

Ce procédé, qui consiste à cultiver la levure dans un milieu envahi par des ferments étrangers, devait paraître paradoxal, à première vue, mais la pratique a su apprécier les bons résultats de cette méthode, dont l'emploi s'est répandu petit à petit pour devenir presque général.

Les progrès réalisés dans la chimie des ferments ne sont pas restés sans influence sur le procédé. On a apporté certaines modifications de détail au mode de travail primitif, et on s'est efforcé de donner une explication scientifique du procédé; toutefois, à l'heure actuelle, cette explication n'est pas encore fournie,



et toutes les hypothèses admises ne reposent sur aucune donnée bien sérieuse.

Dans ces derniers temps, l'attention des chimistes s'est exercée dans une nouvelle voie. On a cherché à remplacer les agents physiologiques par des agents chimiques : au lieu de soumettre les moûts à une fermentation lactique, on leur fait subir un traitement chimique.

Les données obtenues dans cette direction sont très encourageantes, et il est possible que ce nouveau mode de travail remplace l'ancien, mais quoi qu'il arrive, même si l'on doit abandonner ce dernier dans l'industrie, il conservera toujours un intérêt scientifique. Un procédé qui, pendant de longues années, a rendu d'immenses services à l'industrie, mérite d'être approfondi.

Dans la présente étude, nous décrirons dans ses grandes lignes le procédé lactique tel qu'il a été pratiqué depuis son origine, les transformations qu'il a subies ; nous exposerons les théories modernes émises pour l'expliquer, et nous concourrons à élucider la question par l'appoint de nos expériences personnelles.

## II

Dans le travail avec le levain lactique, le point essentiel est de produire sous l'influence des ferments une certaine quantité d'acide dans le moût destiné à la culture de la levure.

Il faut, pour appliquer ce système, passer par une série d'opérations successives que nous allons décrire en peu de mots. Le moût destiné à la culture de la levure se prépare avec du malt d'orge et du grain ou avec du malt seul.

Les matières employées pour faire le levain sont broyées, mises en contact avec de l'eau chaude dans des conditions telles que la température du mélange ne dépasse pas 63 à 65°.

Par une agitation énergique de la masse, on évite la formation de grumeaux. Le mélange homogène est ensuite abandonné pendant 1 à 2 heures, à la température de 61 à 63° C. Après la saccharification qui est la première phase du travail, le moût est transvasé dans des cuvettes en bois, munies d'un couvercle. C'est pendant cette phase du travail que le moût est acidifié par



les ferments adhérant au bois ou se trouvant en suspension dans l'air des chambres à levure.

Le moût est laissé pendant quelques heures dans les cuvettes couvertes; après quoi, on enlève le couvercle; on mélange énergiquement le moût et on l'abandonne à nouveau jusqu'à obtention de l'acidité désirable.

Le moût acidifié est alors refroidi à 17-18°; on y ajoute la levure mère et on laisse fermenter la masse pendant 48 à 24 heures.

Du moût fermenté on prélève un dixième du volume qui servira comme levure mère pour l'opération suivante, et les neuf dixièmes qui restent sont versés dans la grande cuve à fermentation qui contient le moût des grains ou de mélasse.

A ces trois phases du travail : saccharification, acidification, fermentation, on a apporté des modifications sur lesquelles nous reviendrons, mais qui, ajoutons-le immédiatement, ne changent pas essentiellement le caractère du procédé.

L'acidification est encore produite actuellement par les mêmes moyens, peut-être avec cette différence que le procédé est devenu plus facile et plus maniable, grâce aux connaissances acquises sur les agents physiologiques.

C'est aux praticiens que l'on doit d'avoir constaté qu'il faut laisser le moût s'acidifier jusqu'à un certain degré. L'analyse acidimétrique, introduite dans la pratique de la distillerie par Lüdersdorf, a permis de constater que l'acidité recherchée correspondait à 0,9 ou 1 0/0 d'acide lactique. C'est encore ce praticien qui a remarqué qu'il ne suffit pas qu'un levain devienne franchement acide, mais qu'il doit encore conserver un goût frais et une odeur agréable.

L'analyse bactériologique, introduite beaucoup plus tard dans les distilleries, a démontré que l'acidité recherchée par le distillateur est due au ferment lactique, et que l'odeur et le goût particuliers que les efforts des praticiens tendaient à éviter provenaient des ferments butyriques et autres. On voit que la tâche qui s'était imposée à l'inventeur du procédé était très ardue : il s'agissait de produire une fermentation lactique tout en évitant les ferments butyriques, les moisissures et autres bactéries, de faire ce travail dans un moût non stérilisé et sans ensemencement direct, et il fallait procéder à ces opérations sans être aidé par



les analyses microscopiques et chimiques. Faire un bon travail dans ces conditions n'était pas chose facile, et si les opérateurs ont pu triompher d'un tel obstacle, c'est grâce à l'esprit d'observation que développe nécessairement une longue pratique des fermentations.

### III

Depuis l'introduction des méthodes acidimétriques et de l'analyse microscopique dans le contrôle des fermentations, le travail des levains acides n'est pas seulement devenu plus facile et plus accessible, il est aussi devenu plus varié.

On a appris qu'il n'est pas toujours nécessaire de se tenir dans des conditions déterminées, mais qu'au contraire le travail peut varier selon les conditions variées dans lesquelles on se trouve.

C'est ainsi que l'emploi exclusif du malt sec, considéré d'abord comme indispensable, a été remplacé par celui du malt vert, et l'opinion qu'il faut à la levure un moût exclusivement préparé au moyen de malt s'est trouvée combattue.

Il a été établi que l'on peut obtenir le même résultat par l'emploi de moûts de pommes de terre ou de grains non maltés.

L'essentiel est d'obtenir dans le moût une certaine acidité et d'éviter les ferments étrangers : tous les moyens qui permettent d'atteindre ce but sont bons.

Nous avons mentionné que l'acidification du moût est produite, non par un ensemencement direct, mais bien par les ferments qui adhèrent aux parois des vases ou qui se trouvent dans l'air de la chambre à levure.

Dans ces conditions, on doit toujours craindre une infection du moût par des ferments étrangers, et tout doit être mis en œuvre pour l'éviter pendant la préparation du levain.

Le moyen propre à atteindre ce but semblait être la saccharification à haute température et la stérilisation du moût acidifié, mais la pratique n'a pu tirer longtemps profit de ces idées, par suite de circonstances dont il sera parlé plus loin.

L'utilité du levain lactique ne peut être mise en doute ; les distillateurs se rendent journellement compte de l'augmentation sensible du rendement que leur donne le moût acidifié ; ils voient



que la fermentation est plus rapidement terminée, et que, d'une façon générale, le travail est sûr et plus régulier.

Il est donc indiscutable que le levain lactique donne à la levure des propriétés nouvelles, mais ici se pose la question suivante : Est-ce le ferment lactique qui produit ce phénomène, ou est-il dû à l'action des produits des ferments, et, dans les deux cas, quel est le mécanisme de cette action ?

La question est assez complexe, l'explication a été successivement donnée par deux hypothèses : celle de la peptonisation et celle des antiseptiques.

#### IV

Le travail par le levain lactique a pendant longtemps été envisagé comme une phase préliminaire n'ayant d'autre but que d'augmenter la valeur nutritive du milieu destiné à la culture des levures. En partant du principe que les substances possédant un faible équivalent osmogène pénètrent difficilement dans les cellules des levures, on a conclu que les matières albuminoïdes, pour être assimilables, doivent subir des transformations préalables.

Comme, d'après Adolphe Mayer, la peptone fournit une nourriture par excellence à la levure, on l'a cherché à expliquer le rôle des levains acides par la peptonisation de l'albumine végétale.

Cette hypothèse avait pour elle des arguments assez plausibles. D'un côté, Gorup-Besanez a démontré l'existence, dans les grains maltés, d'une diastase agissant sur l'albumine et donnant des peptones, et d'un autre côté on a constaté que la peptonisation est plus rapide et plus complète dans un milieu acide que dans un milieu neutre.

L'acidification préalable du moût de malt destiné à la culture des levures paraissait donc tout simplement un procédé favorisant l'action de ces peptases.

Cette explication, toute hypothétique, mais élégante par sa simplicité, et exposée avec beaucoup de talent et de conviction par son auteur, rencontra beaucoup d'adhérents. Elle pénétra très rapidement dans le domaine de la pratique et exerça son influence sur toutes les phases de la préparation du levain,



sur le choix des matières premières, sur la température de saccharification et sur le degré et la durée de l'acidification.

En partant de ce point de départ que tout le procédé consiste en un travail préparatoire des moûts nutritifs et en une peptonisation, en considérant qu'une nourriture très abondante est absolument indispensable à la levure, on vit dans l'orge germée la matière première par excellence pour la préparation des levures.

Le choix de la température de saccharification fut également influencé par la théorie de la peptonisation. On considéra que le maximum de température qui ne doit être dépassé, ni pendant ni après la saccharification, est de 66°-67° C., par la raison que les matières albuminoïdes se coagulent à une température supérieure et que, par suite de cette coagulation, ces matières échappent à la peptonisation.

La température à laquelle le moût doit être maintenu pendant l'acidification fut fixée entre 37° et 43° C., toujours pour la raison que la peptonisation se produit plus activement entre ces limites de température.

Étant donné que l'acidité du moût favorise la peptonisation jusqu'à un certain point, et que le maximum d'acidité qui peut se produire dans un levain ne dépasse jamais la limite à laquelle elle commence à gêner les peptases, on conseilla de pousser l'acidification jusqu'à ce maximum.

De plus, comme l'opération de la peptonisation est très lente, on attacha une très grande importance à la durée de l'acidification, et on estima qu'il faut la prolonger le plus longtemps possible.

On voit donc que la théorie de la peptonisation ne s'est pas bornée à donner une explication du mécanisme du levain lactique, elle en a aussi tiré toutes les conséquences, et il en est résulté un mode de faire plus conforme à la théorie.

Les praticiens, espérant pouvoir se soustraire aux moyens empiriques, acceptèrent avec enthousiasme ce travail « raisonné et systématique », mais l'expérience ne vint pas justifier leur confiance.

Le système introduit dans l'industrie sous l'empire de la théorie de la peptonisation occasionna des troubles dans le travail des usines, et il fallut longtemps aux industriels pour s'apercevoir qu'ils avaient fait fausse route.



On constata petit à petit l'inexactitude complète de cette théorie; on remarqua que la température d'acidification de 37°-43° C. n'était pas la meilleure, mais qu'au contraire le levain préparé à une température plus élevée donnait des résultats de beaucoup supérieurs.

On trouva en outre que l'acidification extrême de 1,5 — 1,6 d'acide lactique n'était nullement nécessaire, et qu'une longue acidification était plutôt nuisible qu'utile.

La pratique démontra aussi que l'emploi du malt sec, préconisé dans la théorie de peptonisation, n'est aucunement indispensable, et que le malt vert, dans lequel la présence de peptase n'a pas été décelée, donne un résultat identiquement semblable.

En présence de ces résultats négatifs, les promoteurs de la théorie de la peptonisation recommencèrent leurs essais et s'aperçurent bientôt que le levain lactique ne favorise pas la production des peptones, même que celles-ci ne jouent nullement dans la nutrition de la levure le rôle qu'on s'était plu à leur attribuer, et, qu'en réalité, il est plutôt rempli par les amides.

Après ces révélations, la théorie de la peptonisation fut abandonnée, et céda le pas à la théorie qui explique le rôle de l'acidification par son influence antiseptique.

## V

Selon la nouvelle hypothèse, l'emploi du levain acide se justifie par les propriétés antiseptiques de l'acide lactique, qui protège le moût destiné à la culture de la levure contre les moisissures et les ferments nuisibles.

La nouvelle théorie est basée sur ce fait que le ferment lactique offre beaucoup moins de dangers pour la levure que les ferments acétique et butyrique, et que, dans un moût où il se forme une quantité plus ou moins considérable du premier de ces trois acides, les ferments étrangers se développent plus difficilement que dans un moût neutre.

On peut donner à toute la théorie la forme suivante :

Le développement de la levure est menacé par une foule d'ennemis ; les ferments butyriques, les ferments lactiques et les moisissures. Comme de tous ces ennemis le ferment lactique est le moins dangereux, on le laisse s'implanter dans le moût



pour qu'il protège la levure contre d'autres adversaires plus nuisibles que lui.

La protection de la levure se fera donc par l'acidité développée dans le moût, et cette manière de voir concorde avec l'observation de Pasteur, suivant laquelle l'acidité des milieux joue un rôle prépondérant au point de vue de la conservation, et avec les observations de la pratique, que plus le levain est acide, moins l'acidité du moût fermenté avec ce levain est grande.

Cette hypothèse offre le très grand avantage d'expliquer les manipulations auxquelles on a recours dans le travail du levain lactique.

On comprend que la protection qui résulte de l'acide n'est pas absolue, et qu'il importe de se placer dans des conditions spéciales pour que l'antiseptique produise le maximum d'effet. A ce point de vue, on sera amené à conclure que le moût doit être réchauffé après la saccharification et après l'acidification, et que la température d'acidification doit être de 50°C. et non pas de 37° à 43°.

On comprend aussi l'avantage que présente le moût concentré pour la préparation du levain.

L'alcool formé dans un moût concentré exerce aussi une action protectrice contre l'invasion des microbes.

La protection qu'exerce dans certaines conditions l'acide lactique ne peut être mise en doute; mais, tout en admettant cette existence de l'effet antiseptique, on est en droit de se demander si l'action du levain se borne exclusivement à préserver la levure, et si, à côté de cela, la levure ne subit pas d'autres influences plus directes et plus profondes.

Du reste, le rôle préservateur que joue l'acidité du moût à levain n'est nullement prouvé, et nous paraît être basé ici sur des généralités plutôt que sur des observations précises.

Nous avons dit plus haut que la protection que la levure trouve dans le moût acide est loin d'être absolue; il est évident que si c'était le seul rôle du levain, on devrait arriver sans l'emploi d'acide lactique à des résultats identiques, sinon meilleurs, chaque fois que l'on se placerait dans des conditions où la présence de tout ferment étranger serait évitée.

Voici une expérience qui a trait à cette question.

Nous nous sommes placés dans des conditions telles qu'on



peut suivre le travail d'une levure pure et exempte de tout germe étranger, et celui qui est pratiqué avec cette même levure après qu'elle a passé par le levain lactique.

On a opéré de la manière suivante :

On verse dans deux flacons Pasteur A et B, 500 c. c. de moût de malt, à 19° Bal. On stérilise le liquide contenu dans ces deux récipients et l'on ensemence le flacon A avec un ferment lactique pur provenant d'un levain acide de distillerie.

Les flacons A et B sont mis à l'étuve, et, après un séjour de 24 heures à 50°C., on prélève 50 c. c. de chaque récipient, pour les introduire dans deux autres flacons *a* et *b*, contenant chacun 450 c. c. de moût de malt stérilisé, et on recommence l'opération toutes les 24 heures.

L'analyse du moût à la sortie de l'étuve nous sert de contrôle. Dans le flacon *b*, l'acidité n'a pas changé; dans le flacon *a*, l'acidification s'accroît d'une opération à l'autre.

Après la première opération nous avons constaté une acidité de 0,3 en acide lactique; après le septième passage du moût à l'étuve, elle avait atteint 0,95 d'acide lactique.

C'est au moment où l'acidité commence à croître régulièrement dans le flacon *a*, que l'on commence à cultiver la levure dans les deux moûts.

Dans le moût de série A, on a produit ainsi deux fermentations successives, l'une lactique et l'autre alcoolique; le moût de série B est resté, avant de recevoir la levure, 24 heures à l'étuve, mais sans s'acidifier.

On prélève 50 c. c. du moût sortant de l'étuve, pour acidifier le moût de la série suivante; on refroidit les 450 c. c. restant à 25°C. et l'on additionne les deux moûts avec une quantité égale de levure pure.

On laisse fermenter 24 heures à une température constante de 27°C.; on prélève ensuite 100 c. c. des moûts *a* et *b*, pour les mettre de nouveau dans le moût du flacon correspondant ayant passé 24 heures à l'étuve à 50°C.

La préparation de la levure lactique et de la levure témoin a continué ensuite pendant vingt jours, la transplantation s'opérant toutes les 24 heures, et les propriétés des deux levures étant chaque fois déterminées parallèlement dans du moût ordinaire et dans du moût stérilisé.



Ces moûts ont été préparés en saccharifiant du maïs avec 20 0/0 de malt. La densité était de 18 Bal. et l'acidité de 0,09 à 0,1 0/0 d'acide lactique.

Aux 500 c.c. du moût non filtré, on ajoute 25 c.c. de levain lactique, et, dans le flacon témoin, on introduit 25 c. c. de levure B n'ayant pas passé par le levain lactique.

La fermentation fut conduite pendant trois jours.

TABLEAU I.

*Fermentation comparative de la levure lactique et de la levure pure.*

Nos	LEVURES		FERMENTATIONS DU MOUT STÉRILISÉ		FERMENTATIONS DU MOUT NON STÉRILISÉ	
	Levures A, lactique.	Génération de la levure.	Degrés Balling.	Acid. lact. °/o	Degrés Balling.	Acid. lact. °/o
1	"	2	10,1	0,495	1,5	0,63
2	"	8	8,3	0,40	0,8	0,41
3	"	15	5,5	0,31	0,15	0,36
4	"	20	5,6	0,32	0,1	0,31
1	B, pure.	2	8,1	0,21	2,8	0,72
2	"	8	6,2	0,18	3,1	0,76
3	"	15	6,4	0,19	2,6	0,71
4	"	20	6,8	0,23	2,5	0,68

Les chiffres de ce tableau montrent que la levure lactique est beaucoup plus active que la levure pure. La chute obtenue avec la première a été de 5,5° Bal. dans le moût stérilisé et de 0,1 dans le moût non stérilisé, tandis qu'avec la seconde levure, la fermentation fut moins complète; on a obtenu une chute de 6,2 dans le moût stérilisé et de 2,5 dans le moût non stérilisé.



Le tableau comparatif des chutes et des acidités obtenues dans les fermentations du même moût stérilisé traité, d'une part par la levure lactique, d'autre part par la levure pure, montre que l'activité de la levure lactique ne doit pas être considérée comme une résultante des propriétés antiseptiques de l'acide lactique.

Avec la levure pure, l'acidité du moût n'augmente pas, mais la chute est loin d'être aussi profonde qu'avec la levure lactique qui, bien qu'occasionnant une infection dans le moût, donne, néanmoins un travail plus énergique.

L'action antiseptique de la levure lactique dans le moût non stérilisé est plus démonstrative; il s'y produit une acidité de 0,31-0,36, tandis qu'avec la levure pure, l'acidité est de 0,68 à 0,71. Toutefois, rien ne prouve que la conservation du moût non stérilisé ait pour cause l'acide lactique ou d'autres produits des ferments, car l'activité même de la levure peut, à elle seule, déjà exercer une action antiseptique.

## VI

Généralement, le rôle du levain lactique s'explique simplement par le pouvoir antiseptique de l'acide lactique; on considère que la levure doit être protégée dans le levain contre l'invasion des ferments étrangers, et que, dans ces conditions, elle présente elle-même une résistance autre que la levure affaiblie pendant sa formation par des microorganismes.

L'expérience citée dans le chapitre précédent nous a montré que la levure lactique agit réellement comme un antiseptique dans le moût non stérilisé, mais nous avons vu aussi que la levure lactique possède une activité plus grande que la levure exempte de ferments, et que cette supériorité se manifeste avec une égale évidence dans les moûts stérilisés et ceux qui ne le sont pas. On pourra donc conclure que, dans le travail industriel, le levain lactique a une influence sur la levure et sur les ferments étrangers contenus dans le moût. Nous reviendrons par la suite sur l'action directe du levain sur la levure, en étudiant les moyens par lesquels l'activité de la levure peut être influencée, mais, avant d'entamer cette étude, nous nous efforcerons de résoudre la question de savoir si les propriétés anti-



septiques de l'acide lactique exercent une action quelconque dans le travail du distillateur.

Voici une expérience sur cette question :

Nous avons pris 3 levures, *a*, *b*, *c* préparées dans des conditions identiques à celles de l'expérience précédente.

*a* est une levure lactique.

*b* est une levure pure, et *c* est également une levure pure mais elle est acidifiée.

*a* et *c* ont le même degré acidimétrique.

Dans *a* l'acidité est produite par les ferments; en *c* on a obtenu le degré voulu d'acidité en ajoutant de l'acide lactique au moût avant l'ensemencement de la levure.

L'acidité dans ces 2 levures varie de 4 à 4,15 0/0.

Après avoir traité les 3 levures pendant 15 jours en les renouvelant toutes les 24 heures, on fermente avec ces levures 500 c. c. de moût de maïs saccharifié avec 20 0/0 de malt.

On emploie 50 grammes de levain pour chaque échantillon et chaque essai est fait en double.

La fermentation avec les levures est conduite dans deux moûts stérilisés; l'un estensemencé avec 1 c. c. d'une culture diluée d'acide lactique, et l'autre ne reçoit pas de ferment lactique.

Dans les trois dernières expériences citées dans le tableau, les trois levures ont été chauffées à 70° pendant une demi-heure, et ensuite mises dans le moût stérilisé, additionné de ferment lactique.



TABLEAU II.

LEVURES		MOÛT STÉRILISÉ		MOÛT ADDITIONNÉ DE FERMENT LACTIQUE	
Série.	N <sup>os</sup>	Degrés Balling.	Acidité.	Degrés Balling.	Acidité.
A levure lactique	1	5,4	0,31	5,6	0,36
	2	4,8	0,34	5,3	0,34
	3	5,2	0,31	5,1	0,22
B levure pure	1	8,6	0,24	10,2	0,54
	2	9,1	0,26	10,5	0,63
	3	10,3	0,28	11,0	0,68
C levure pure + acide lact.	1	4,6	0,4	4,7	0,42
	2	5,4	0,41	5,6	0,44
	3	4,9	0,36	5,2	0,38
A	1	»	»	»	0,9
B	2	»	»	»	0,92
C	3	»	»	»	0,96

En comparant l'acidité des trois premières séries, on voit que la levure cultivée dans le moût acide a produit un effet antiseptique.

Dans le moût fermenté avec la levure pure, le ferment lactique s'est très bien développé, et on y a trouvé une acidité de 0,54 à 0,68.

La levure cultivée en moût acide a empêché le développement du ferment, et le maximum d'acidité formée a été de 0,44.



La circonstance que les levures *a* et *c* mènent toutes deux au même résultat prouve suffisamment que l'action du levain lactique est due non pas à ce ferment, mais bien à l'acide que celui-ci a engendré.

Dans les trois derniers échantillons où les trois levures ont été chauffées à 70°, l'action de l'acide lactique disparaît complètement.

Dans ces trois moûts, le ferment lactique s'est développé avec une égale facilité, et l'acidité correspond à 0,9 — 0,96.

Il en résulte que l'action antiseptique du levain lactique ne provient pas de l'acidité du moût, et que le non développement du ferment est tout simplement un résultat de l'activité de la levure.

Dans cette série d'essais, cette activité a été entravée par la température, et les ferments, sans être nullement gênés par l'acide lactique introduit avec la levure, se sont développés sans obstacle.

## VII

Nous venons de dire que le levain acide produit une action directe sur la levure et que c'est cette dernière qui remplit le rôle d'antiseptique, tandis que l'acide lactique, produit dans le levain, reste sans action. Ce point établi, nous pouvons étudier l'action physiologique du moût lactique sur la levure. — On croit généralement que les conditions dans lesquelles on se place pour traiter le levain favorisent la multiplication des levures, et que, par le travail du levain, on produit un maximum de levure avec une quantité minima de substances nutritives, tandis que la levure produite dans ces conditions doit, elle, opérer un travail contraire.

Le but poursuivi sera, par conséquent, de faire travailler la levure successivement dans deux directions différentes. On veut avoir dans le levain un pouvoir ferment très faible alors que dans les cuves ce pouvoir doit atteindre un maximum. En réalité, le passage du moût par le levain acide n'a pas pour objet de produire une abondante récolte de levure; au contraire, il s'agit de lui donner une grande activité, de produire une levure qui non seulement peut transformer une grande



quantité de sucre, mais aussi qui soit apte à opérer cette transformation, le plus rapidement et le plus complètement possible.

Au point de vue pratique, la quantité de levure formée et le rapport existant entre celle-ci et la quantité du sucre transformé sont des facteurs avec lesquels on doit compter, mais dont l'importance n'est cependant que secondaire.

Dans la pratique, la fermentation doit être complète après 3 à 4 jours, et l'on doit obtenir une atténuation aussi parfaite que possible.

On a intérêt à produire peu de levure, mais la perte en matières nutritives résultant de la production de levure n'est pas proportionnelle à la diminution de rendement provoquée par la levure peu active et la non transformation d'une grande quantité de sucre.

L'activité de la levure au point de vue purement pratique doit être envisagée comme une propriété indépendante du pouvoir ferment; elle doit se mesurer à la quantité de ferment indispensable pour transformer en 72 heures une quantité déterminée de sucre, dans des conditions données.

En comparant à ce point de vue différentes levures alcooliques on constate d'énormes différences.

Les levures possèdent une activité très variée, et la quantité de ferment nécessaire pour produire une certaine quantité d'alcool dans une limite de temps donné peut différer de 1 à 10 et même davantage.

L'activité d'une levure est presque toujours une conséquence de son état physiologique et aussi des conditions physiques et chimiques du milieu dans lequel elle s'est développée.

La question de race joue en tout cela un rôle secondaire.

En partant d'une cellule, on peut obtenir une série de générations présentant des variations énormes quant à l'activité. Il suffit pour cela qu'on retire la levure à différents moments de sa maturité.

La levure prise au début du bourgeonnement offre une activité très faible.

Au moment où les cellules neuves sont formées et prêtes à se séparer des cellules mères, l'activité atteint au contraire son maximum. Elle diminue ensuite au fur et à mesure que la levure reste dans le milieu s'appauvrissant en matières nutritives. Nous



avons eu l'occasion d'observer, à diverses reprises, ces variations suivant l'état de croissance de la levure.

L'action chimique du milieu est encore plus démonstrative : selon Hayduck, la richesse en azote d'une levure est approximativement proportionnelle à la teneur en azote du milieu de culture où elle s'est développée.

D'un autre côté, l'activité d'une levure est proportionnelle à la teneur en azote de la levure sèche, et il s'ensuit que la richesse en matières azotées du milieu dans lequel elle a été cultivée influence à un haut degré son activité.

Un autre moyen de rendre la levure plus énergique et plus active consiste à ensemer un milieu nutritif avec un fort excès de levure.

Les conditions de température et d'acidité du milieu doivent également être prises en considération.

La levure obtenue à basse température a toujours fait preuve d'une plus grande vigueur que celle obtenue à 30° C. L'influence de l'acidité du milieu n'est pas moins manifeste. Une levure provenant d'un moût stérilisé et acidifié ensuite avec 1,25 % d'acide lactique a fait preuve d'une puissance presque double de celle d'une levure provenant d'un moût non acidifié.

On arrive à un résultat plus probant encore par un traitement successif de levures en milieu contenant du fluorure. De très nombreuses expériences, exécutées dans cette voie, ont montré que l'acide fluorhydrique et les fluorures peuvent accroître l'activité des levures, et qu'en observant certaines conditions favorables cet accroissement d'activité peut être de 1 à 30.

Voyons maintenant les conditions dans lesquelles on obtient une levure peu active.

Nous avons constaté dans une série d'essais comparatifs que c'est, avant tout, l'aération du moût levain qui diminue l'activité de la levure.

Le rapport existant entre une levure provenant d'un moût aéré et d'un autre moût n'ayant pas subi l'aération est de 3 à 1.

Il nous a fallu 3 grammes de levure obtenue en présence de l'air, et 1 gramme seulement de levure semblable mais non aérée pour avoir la même quantité d'alcool, dans un même temps et avec le même moût.

En examinant de plus près ces influences qui s'exercent sur



l'activité des levures, on remarque qu'il existe une relation constante entre l'accroissement et l'activité.

En pratiquant l'aération, la récolte est abondante, mais la levure n'est que médiocrement active.

D'après Verenszolt, 1 0/0 d'acide lactique enraye sensiblement l'accroissement, 2 0/0 diminuent la récolte dans la proportion de 3,5 à 10, 3.

L'acide volatil exerce aussi une influence très sensible, et 0,2 0/0 d'acide acétique occasionne une diminution de 15 0/0 environ; la présence de 0,6 0/0 d'acide provoque une récolte quatre fois plus faible.

D'après Gislain, 0,005 0/0 d'acide butyrique influencent la récolte, et en présence de 0,05 0/0 d'acide, elle n'est que de 1/3 de la moyenne.

L'acidité du milieu qui, nous l'avons vu, augmente l'activité de la levure, en diminue donc l'accroissement dans une proportion assez sensible.

Le cas que nous allons citer, et dans lequel l'augmentation d'activité provenait d'un ensemencement dans un milieu nutritif avec un grand excès de levure, coïncide aussi avec une faible récolte.

En introduisant 8-12 0/0 de levure dans un moût de malt, on remarque un faible accroissement; mais, même en se multipliant peu ou pas, la levure n'en continue pas moins à se nourrir et augmente ainsi sa vigueur.

Le rapport entre l'activité et la teneur en matières azotées est aussi en corrélation directe avec la force de reproduction de la levure.

On sait qu'une levure très riche en azote se reproduit, dans certains cas, moins facilement qu'une autre moins riche.

Nous pensons que c'est avec des liquides contenant du fluorure que l'on a pu étudier le mieux le rapport existant entre l'accroissement de la levure et son activité.

En ajoutant des doses croissantes de fluorure d'ammonium au moût de malt, on constate que la récolte diminue.

Le développement des cellules se trouve déjà sensiblement ralenti par une addition de 100 milligrammes, et l'addition de 300 milligrammes l'arrête presque complètement.

L'arrêt de la croissance n'entraîne nullement celui de l'acti-



vité; au contraire, la levure fournira un travail d'autant plus énergique que la dose de fluorure dans le premier moût aura été plus forte.

Il en résulte que pour augmenter l'activité d'une levure, il importe de se placer dans des conditions telles qu'elle ne subisse pas une multiplication trop rapide, et que les cellules puissent emmagasiner une quantité suffisante de matières nutritives et d'énergie.

Voyons ce qui en réalité se passe dans le levain.

D'après les données recueillies par la pratique, on sait que les conditions essentielles pour l'obtention d'un levain actif sont les suivantes :

1° Il faut que le moût ait une acidité de 0,9-1,0 d'acide lactique.

2° Le moût doit être riche en matière azotée et sucrée, et doit avoir une densité de 24 à 26° Balling.

3° La température de mise en levain doit être très basse et ne doit pas dépasser 18°.

4° La levure doit transformer en alcool plus que la moitié du sucre contenu dans le moût.

Si nous examinons maintenant chacune de ces conditions, nous voyons qu'elles concourent toutes à empêcher l'accroissement.

La grande concentration des moûts agit sur les cellules par deux voies différentes.

Les moûts concentrés, par leur teneur en azote, doivent provoquer, à la longue, un arrêt dans l'accroissement, puisque la levure très riche en azote n'est productive que dans des moûts pauvres en matières nutritives, et que son accroissement diminue si elle continue à être cultivée dans des moûts très riches.

Mais le moût concentré agit plus encore sur la croissance par l'effet de l'alcool qu'il contient. On sait en effet que l'alcool influence défavorablement l'accroissement de la levure, et qu'en présence de 3 0/0 d'alcool, la récolte est très minime. Dans les moûts concentrés, on arrive plus facilement à la teneur en alcool capable d'influencer défavorablement la récolte que dans un moût de faible concentration.

Cette influence de l'alcool est d'autant plus forte que la température à laquelle on laisse fermenter le levain est plus élevée.



On introduit ordinairement la levure à 16-17° C., c'est-à-dire à une température défavorable à la croissance, mais elle augmente graduellement et parvient à 27-29°.

L'accroissement pourrait donc être favorisé si l'alcool contenu dans le moût n'intervenait pas pour l'empêcher.

Cette manière de voir se trouve corroborée par l'enseignement de la pratique. C'est l'expérience qui établit la règle que le levain, pour une faible concentration, doit être acidifié plus fort que celui d'un moût concentré, et que la mise en levure doit être faite dans le moût faible à une température plus basse.

Dans les moûts à faible concentration, la multiplication des levures pourra être plus facile à cause de la production moindre en alcool, et c'est en augmentant l'acidité et en réduisant la température qu'on s'efforce de combattre l'accroissement.

L'acidité du moût levain n'est pas non plus favorable à l'accroissement, et l'action de l'acide est d'autant plus énergique que le ferment lactique produit toujours des acides volatils déjà nuisibles à des doses très petites, et cela principalement en milieu acide.

## VIII

Nous avons vu dans le chapitre précédent que, dans la préparation du levain, tout concourt à la diminution de la récolte en levure, et que l'activité de la levure doit être considérée comme une conséquence directe de la faible production de nouvelles cellules.

Avant de terminer ce travail, nous tenons à faire encore quelques observations sur le mode suivant lequel l'acidification se pratique industriellement.

Parmi les produits secondaires de la fermentation lactique, se trouvent toujours de l'acide acétique et souvent de l'acide formique. Ce sont ces produits secondaires qui, selon nous, jouent un rôle prépondérant dans les levains; nous avons souvent constaté que, si l'acide volatil représente 4 à 6 0/0 de l'acidité totale du levain, la récolte de levure est fortement diminuée et qu'on obtient une levure très active, mais on aboutit à un résultat tout autre si l'acide volatil représente 15 à 20 0/0 de l'acidité totale; dans ce cas, la reproduction est presque totalement arrêtée et la levure, au lieu de gagner en



activité, perd en énergie; il résulte de là qu'il est très important d'éviter le plus possible, dans l'acidification, la production d'acides volatils.

Dans un travail paru dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, M. Kayser constate que la fermentation lactique peut produire de 5 à 50 0/0 d'acide volatil, et que les proportions d'acide volatil et d'acide fixe dépendent surtout de l'aération du moût. Dans les couches profondes des moûts en fermentation lactique, où l'air n'a que difficilement accès, Kayser a constaté un rapport de 5 à 95 entre la quantité d'acide volatil et d'acide fixe; dans les couches superficielles, au contraire, ce rapport était de 1 à 1.

Dans la fabrication industrielle des levains, on attache une très grande importance à la formation d'une croûte ou chapeau dans les moûts exposés à l'acidification, et sans même en connaître la raison, on cherche à priver d'air le ferment pendant cette opération.

C'est pour la même raison que, dans un grand nombre de distilleries, la croûte supérieure du levain est rejetée; on se débarrasse ainsi des cultures développées à la surface du moût.

Il est encore un autre point de la fabrication industrielle qui est devenu compréhensible à la suite des travaux de M. Kayser; il a été établi par la pratique que la meilleure température d'acidification est de 50°. Le choix de cette température a toujours été attribué à ce fait que le ferment lactique résiste à cette température, tandis qu'elle détruit le ferment butyrique.

Kayser a montré que les différentes espèces de ferment n'offrent pas la même résistance à la température, et que les espèces les plus résistantes produisent une acidification plus énergique; d'un autre côté il a fait voir qu'on obtient moins d'acides volatils en acidification rapide que dans l'acidification lente.

Il s'ensuit que le choix de la température de 50° se justifie par la sélection d'une espèce lactique résistante, donnant peu d'acide volatil et, en réalité, la quantité d'acide volatil dans le levain industriel dépasse rarement 5 0/0 de l'acidité totale.

Le travail de M. Kayser sur la fermentation lactique a donc jeté la lumière sur quelques phases de la mise en levain, et il est vraiment curieux de constater que le savant et le praticien peuvent arriver aux mêmes résultats par l'emploi de moyens totalement différents.



## CONCLUSIONS.

1° L'utilité du levain acide ne peut être attribuée à l'action antiseptique de l'acide lactique.

2° Les conditions générales dans lesquelles on fabrique industriellement le levain lactique (concentration, acidité du moût, basse température de fermentation) influencent très sensiblement les caractères physiologique des levures, et les cellules reproduites dans ces conditions sont caractérisées par leur grande activité;

3° L'activité d'une levure dépend surtout du pouvoir ferment; une levure cultivée dans des conditions qui produisent un faible pouvoir ferment, fournira des cellules très peu actives; au contraire, si les conditions sont défavorables à la production des levures, et si le rapport entre le sucre disparu et la levure formée est considérable, les cellules résultant de ce travail montreront une activité d'autant plus grande que le pouvoir ferment était plus élevé. L'activité dépend donc des récoltes; une levure ayant fourni une forte récolte donnera des cellules peu actives, tandis que la même levure, cultivée dans un moût riche en matières nutritives, mais dans des conditions propres à restreindre l'accroissement, donnera des générations de cellules actives;

4° Dans les conditions où on se place pratiquement pour préparer le levain lactique, la reproduction des levures ne peut être considérable, et l'activité de la levure est une conséquence de sa faible reproduction.

5° L'acidification s'opère industriellement à la température de 50°; on peut expliquer le choix de cette température par le fait qu'il s'opère, dans ces conditions, une sélection du ferment au profit d'une espèce lactique résistant à une haute température, et capable de donner une acidification plus rapide avec une production minime d'acide volatil.

---

*Le Gérant : G. MASSON.*

---